Postverlagsort Berlin

4/B
598

ALBRECHT VON GRAEFES ARCHIV FÜR OPHTHALMOLOGIE

VEREINIGT MIT

ARCHIV FÜR AUGENHEILKUNDE

(KNAPP-SCHWEIGGER-HESS)

HERAUSGEGEBEN VON

J. BÖCK, WIEN
E. ENGELKING, HEIDELBERG
H. K. MÜLLER, BONN
E. SCHRECK, ERLANGEN

SCHRIFTLEITUNG

E. ENGELKING
HEIDELBERG

BOSTON
JAN 8 1962
MED

164. BAND, 2. HEFT
MIT 38 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 4. DEZEMBER 1961)

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J. F. BERGMANN · MÜNCHEN
1961

Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal.

Preis DM 22.80

Albrecht von Graefes Archiv für Ophthalmologie
vereinigt (seit 1938) mit
Archiv für Augenheilkunde

Begründet 1854 von *Albrecht v. Graefe*, ab Band 1, 2. Abteilung bis Band 16 (1870) herausgegeben von *A. v. Graefe, F. Arlt* und *F. C. Donders*, ab Band 17 (1871) unter dem Titel „Albrecht von Graefes Archiv für Ophthalmologie" bis Band 32 herausgegeben von *F. Arlt, F. C. Donders, Th. Leber*, später von *H. Sattler, H. Snellen, A. Wagenmann, E. Fuchs, E. v. Hippel, W. Löhlein, E. Hertel, K. Wessely* u. a.

Band 1, Berlin 1854/55, Verlag von P. Jeanrenaud (A. Förstnersche Buchhandlung), Band 2 bis 33/1 (1855—1887) Berlin, Verlag von H. Peters, Band 33/2—91 (1916) Leipzig, Wilhelm Engelmann, Band 92 u. ff. Berlin, Springer-Verlag.

Das „Archiv für Augenheilkunde", begründet 1870 von *H. Knapp, S. Moos, L. Mauthner*, erschien bis Band 7 als „Archiv für Augen- und Ohrenheilkunde", davon Band 1—3/1 Karlsruhe, C. F. Müllersche Hofbuchhandlung, ab Band 3/2 bis Band 110 (1937) herausgegeben von *H. Knapp, J. Hirschberg, C. Schweigger, C. Hess, K. Wessely, E. Hertel, W. Löhlein* u. a. Wiesbaden, später München, Bergmann.

„Albrecht von Graefes Archiv für Ophthalmologie", vereinigt (seit 1938) mit *„Archiv für Augenheilkunde"*, erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Manuskriptsendungen und Mitteilungen in redaktionellen Angelegenheiten werden erbeten an
Herrn Prof. Dr. E. Engelking, Heidelberg, Kapellenweg 22.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und *druckfertig* einzuliefern, so daß Zusätze oder größere sachliche Korrekturen nach erfolgtem Satz vermieden werden. Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen werden auf *besonderen* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke unentgeltlich.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Springer-Verlag
Heidelberg 1, Postfach 3027
Fernsprecher 2 79 01, Fernschreibnummer 04-61 723
Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 83 03 01, Fernschreibnummer 01-83 319

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstr. 56
Fernsprecher 44 05 35

---

164. Band **Inhaltsverzeichnis** 2. Heft

Seite

Münich, W., Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß von α-Chymotrypsin auf die Aufnahme von S^{35}-Sulfat in die Hornhautgewebe. Mit 3 Textabbildungen 145

Busse Grawitz, P., In welcher Minimalzeit kann die Hornhaut in situ Gewebeleukocyten bilden? Mit 2 Textabbildungen 151

Dardenne, U., und G. Drechsler, Die Aktivität der Milchsäuredehydrogenase in tierischen und menschlichen Augenlinsen. Mit 1 Textabbildung 156

Boros, B., und I. Takáts, Pharmakologische Beobachtungen mit Tosmilen am isolierten Irismuskelpräparat. Mit 5 Textabbildungen 163

Pilz, A., Unterschiede im Zapfenteil der Dunkeladaptationskurve nach skotopisch äquivalenter Farbadaptation. Mit 5 Textabbildungen 168

Hoffmann, D. H., und Th. Waubke, Experimentelle Untersuchungen zur metastatischen Ophthalmie mit der Candida albicans. Mit 13 Textabbildungen 174

Magnussen, K., Beitrag zur Genetik des Glaukoms beim Kaninchen. Mit 6 Textabbildungen 197

Schnabel, R., und G. Nisch, Ein histochemischer Beitrag zur Metallablagerung im Kayser-Fleischerschen Cornealring. Mit 2 Textabbildungen . . . 220

Sachsenweger, R., Zum stereoskopischen Glanz. Mit 1 Textabbildung . . . 231

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Oleomycetin-®
Prednison

AUGENTROPFEN

Zuverlässiger antibakterieller Effekt des Breitspektrum-Antibioticums · Kleinster Anteil resistenter Keime · Weit überlegene entzündungsdämpfende und antiallergische Wirkung des Prednisons · Gut verträgliche und technisch vorteilhafte Zubereitungsform.

Oleomycetin-Prednison Augentropfen

Tube zu 2,5g DM 3.10
Klinikpackung mit 5x2,5g

Klare, einheitliche oelige Lösung von 0,5% Chloramphenicol und 0,2% Δ_1-Dehydrocortison (Prednison)

Literatur und Muster auf Anforderung

DR. WINZER Chemisch-pharmazeutische Fabrik KONSTANZ

CHLORAMPHENICOL «BOEHRINGER»

Bei allen Infektionen des Auges

PARAXIN®-

AUGENSALBE

boehringer

Bei schweren Fällen
zusammen mit
Kapseln, Dragées oder Trockensaft
die optimale Therapie

C. F. Boehringer & Soehne GmbH · Mannheim

v. Graefes Archiv für Ophthalmologie 164, 145—150 (1961)

Aus der Universitäts-Augenklinik Würzburg (Direktor: Prof. Dr. W. Reichling)

Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß von α-Chymotrypsin auf die Aufnahme von S^{35}-Sulfat in die Hornhautgewebe

Von

W. Münich

Mit 3 Textabbildungen

Klinische Beobachtungen haben gezeigt, daß nach der Einwirkung von α-Chymotrypsin auf den Bulbus pathologische Effekte an den Hornhautgeweben auftreten können. Nach der Anwendung des Fermentes im Verlaufe der Kataraktextraktion wurde ein häufigeres Vorkommen von Dehiszenzen der Starschnittwunde, ein längeres Bestehenbleiben von Deszemetfalten sowie Epithelödem und Parenchymtrübung der Hornhaut beobachtet (Ainslie; Dollfus u. Massin; Fanta; Fanta u. Herold; Fuchs; Hill; Lisch; Mylius u. a.). Auf experimentellem Wege wurde nachgewiesen, daß α-Chymotrypsin die wasserlöslichen Proteine des Kalbshornhautepithels beeinflußt (Steinvorth), an der Kaninchencornea zu Hornhauttrübungen und Störungen der Wundheilung führt (Radnót u. Pajor; Appelmans; Michiels, de Backer u. Alaerts) und das homogenisierte Gewebe von Rinderhornhäuten enzymatisch abzubauen vermag (Hofmann u. Lembeck).

Die Hornhaut ist reich an sauren Mucopolysacchariden, die für die Wasserbindungsfähigkeit und Transparenz des Gewebes von großer Bedeutung sind (Clemens; Heringa u. Weidinger; Leyns). Ebenso wie andere Organe, die sich durch einen großen Gehalt an sulfatierten Mucopolysacchariden auszeichnen (z. B. Knorpelgewebe) vermag die Hornhaut radioaktiven Schwefel in Form von S^{35}-Sulfat zu binden und in saure Mucopolysaccharide einzubauen (Boström u. Mansson; Dohlman u. Boström; Wortman u. Strominger; Suda u. a.). Die Einbaurate von S^{35}-Sulfat in die in den Hornhautgeweben befindlichen sauren Mucopolysaccharide kann zur Beurteilung ihrer Funktionsfähigkeit herangezogen werden, da die Sulfatgruppen der Sulfomucopolysaccharide offensichtlich auf enzymatischem Wege kontinuierlich ausgetauscht werden (Boström u. Jorpes; Dohlman; Odeblad u. Boström). Wir haben nun Untersuchungen angestellt, die zur Klärung der Frage beitragen sollen, ob α-Chymotrypsin in verschiedenen, bei bulbuseröffnenden Operationen angewendeten Konzentrationen, den Einbau von S^{35}-Sulfat in die Gewebe der isolierten überlebenden Kalbshornhaut zu beeinflussen vermag.

Methodik

Die Hornhäute frischer Kalbsaugen wurden innerhalb eines Zeitraumes von 30 min nach der Enucleation des Auges am Limbus corneae von der Sklera abgetrennt und mit einem Rasiermesserschnitt in zwei annähernd gleiche Hälften zerlegt. Die beiden Hornhauthälften jedes Auges wurden in je ein vorgewogenes Präparateglas eingebracht, in dem sich sterile physiologische NaCl-Lösung (5 ml) befand. In eines der mit einer Hornhauthälfte beschickten Gläschen wurde α-Chymotrypsin in isotonischer Kochsalzlösung hinzugegeben, bis die gewünschte Endkonzentration erreicht war. Das Gläschen mit der restlichen Hornhauthälfte diente zur Kontrolle. Die Proben wurden anschließend im Höppler-Thermostaten bei einer Temperatur von 37° C bebrütet. Nach Beendigung der Bebrütung wurden die Hornhauthälften mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült und in je ein Präparateglas übertragen, in dem sich 5 ml Ringerlösung, 10000 E Penicillin und 45μ C S^{35}-Sulfat in schwacher Kochsalzlösung befanden. Es erfolgte eine erneute Bebrütung im Höppler-Thermostaten für die Dauer von 18 Std bei 37° C. Danach wurde jede Hornhauthälfte mit reichlich Aqua dest. abgespült, auf dem Gefriermikrotom eingefroren und in 10—12 μ dicke Schnitte zerlegt. Die einzelnen Schnitte wurden sorgfältig gesammelt und homogenisiert. Etwa $^1/_3$ des Homogenisates wurde gewogen und anschließend bei 100° C 5 Std lang getrocknet. Sodann wurde sein Trockengewicht bestimmt. Der getrocknete Anteil wurde in 1,0 ml 98%iger Ameisensäure unter vorsichtiger Erwärmung aufgelöst. Je 0,1 ml des so gewonnenen ameisensäurehaltigen Extraktes wurden auf Aluminiumschälchen aufgebracht und mit einem auf den Schälchenmittelpunkt eingestellten Oberflächenverdampfer verdampft. Anschließend wurden die Schälchen in einen Methandurchflußzähler FH 51 eingebracht und die Strahlungsmessung durchgeführt. Die Berechnung erfolgte in Impulsen/min/mg Trockengewicht unter Berücksichtigung der Selbstabsorption. Die erhaltenen Meßwerte wurden auf das gesamte in die Hornhautgewebe aufgenommene S^{35}-Sulfat (Gesamtsulfat) bezogen, die verbleibenden $^2/_3$ des Homogenisates wurden 3 Tage lang gegen sulfatfreies Aqua dest. dialysiert. Danach wurde das Homogenisat auf Abdampfschälchen übertragen und 5 Std lang bei 100° C getrocknet. Anschließend wurde das Gewicht bestimmt. Die Herstellung des ameisensäurehaltigen Extraktes für die Strahlungsmessung erfolgte wie oben angegeben. Die jeweils festgestellte Impulsrate wurde auf den organisch gebundenen Anteil von S^{35}-Sulfat (sog. Ester-Sulfat) bezogen, der die sauren Mucopolysaccharide enthält.

Die statistische Auswertung der Meßergebnisse wurde so vorgenommen, daß zunächst aus den für jede Gruppe ermittelten Einzelresultaten der Mittelwert und der mittlere Fehler des Mittelwertes bestimmt wurde. Der Unterschied M_1—M_2 zweier Mittelwerte M_1 und M_2 wurde als statistisch gesichert bezeichnet, wenn er größer war als

$$3{,}4\sqrt{\sigma_{M_1}^2+\sigma_{M_2}^2}$$

wobei σ_{M1} und σ_{M_2} die in den Abbildungen angegebenen mittleren Fehler der Mittelwerte M_1 bzw. M_2 bezeichnen (HOSEMANN).

Zur papierelektrophoretischen Darstellung der aus den Hornhautgeweben extrahierbaren mucopolysaccharidhaltigen Fraktion wurde zunächst, wie oben beschrieben, vorgegangen. Nach beendeter Homogenisierung der Gewebe wurde unter Zusatz einer geringen Menge von 0,05 M Phosphatpuffer, p_H 7,0 3 Std lang extrahiert und anschließend scharf zentrifugiert. Je 0,05 ml des überstehenden Extraktes wurden zum Auftrag verwendet. Die Papierelektrophorese wurde in einem Elphor-Gerät durchgeführt (Schleicher & Schüll-Papier Nr. 2043 a Mgl., 0,05 M Phosphatpuffer p_H 7,0, 200 V, Wanderungsdauer 3 Std). Auf einem 11,5 cm

breiten Papierstreifen wurden am Startpunkt untereinander zweimal der Gewebeextrakt und sodann die Testsubstanzen Keratosulfat und Chondroitinsulfat (in wäßriger Lösung), die nach dem Verfahren von Meyer, Linker, Davidson u. Weissmann aus Rinderhornhäuten gewonnen wurden, aufgetropft. Nach Beendigung der Wanderung wurde der dem Rande am nächsten gelegene extrakthaltige Papieranteil abgetrennt und in Abschnitte von 2 mm Länge unterteilt. Die einzelnen Abschnitte wurden der Reihe nach in einen Methandurchflußzähler FH 51 mit Kathodengitter eingebracht und ihre Radioaktivität bestimmt. Der verbleibende Papierstreifen (etwa 9 cm breit) wurde in einer Lösung von 0,1% Toluidinblau in 50% Äthylalkohol angefärbt und dadurch die auf ihm befindlichen mucopolysaccharidhaltigen Anteile sichtbar gemacht.

Ergebnisse und Besprechung der Ergebnisse

α-Chymotrypsin wurde in Konzentrationen von 1:5000 und 1:10000 5 min und 45 min lang auf die überlebende Kalbscornea zur Einwirkung gebracht. Das gesamte, im Verlaufe der Bebrütungsdauer in die Hornhautgewebe aufgenommene S^{35}-Sulfat, wurde = 100% gesetzt und der prozentuale Anteil des Ester-Sulfates vom Gesamtsulfat bestimmt. Die Resultate dieser Untersuchungen sind aus den Abb. 1 und 2 ersichtlich. Die in jeder Kolumne aufgeführten Zahlenwerte stellen das aus 20 Einzeluntersuchungen errechnete arithmetische Mittel ± mittlerer Fehler des Mittelwertes des Ester-Sulfat-Anteiles dar. Aus ihnen geht hervor, daß α-Chymotrypsin in den Konzentrationen 1:5000 und 1:10000 nach einer Einwirkungsdauer von 5 min und 45 min zu einer Reduzierung der Aufnahme von S^{35}-Sulfat in die Ester-Sulfat-Fraktion gegenüber den Kontrollen führt (Abb. 1 und 2). Nach einer Einwirkungszeit von 45 min ist der hemmende Effekt des Enzyms sowohl in der Konzentration 1:5000 als auch in der Konzentration 1:10000 in statistisch signifikanter Weise ausgeprägt.

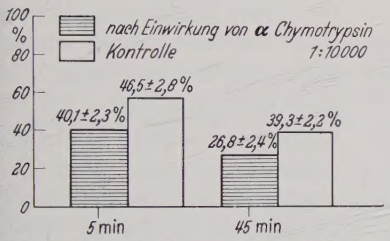


Abb. 1. Prozentualer Anteil des Ester-Sulfates (S^{35}) am Gesamtsulfat (S^{35}) in den Hornhautgeweben (Gesamtsulfat = 100%)

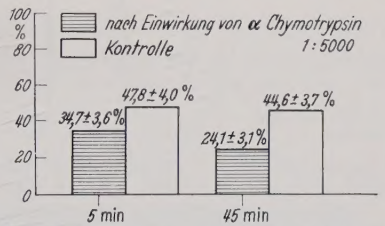


Abb. 2. Prozentualer Anteil des Ester-Sulfates (S^{35}) am Gesamtsulfat (S^{35}) in den Hornhautgeweben (Gesamtsulfat = 100%)

Aus Abb. 3 ist zu ersehen, daß ein großer Teil des zugeführten S^{35}-Sulfates an die aus den Hornhautgeweben extrahierbare mucopolysaccharidhaltige Fraktion gebunden wird. Der größte Teil bleibt als nicht organisch fixiertes S^{35}-Sulfat erhalten und liegt in unserer

Abbildung mit seinem Maximum im Bereiche zwischen 10 und 12 cm. Die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit der mucopolysaccharidhaltigen Fraktion (E) ist gegenüber den mitlaufenden Testsubstanzen Keratosulfat (KS) und Chondroitinsulfat (ChS) etwas verlangsamt, wohl infolge der Assoziation mit Proteinen (WERNER u. ODIN). Experimentelle Untersuchungen haben gezeigt, daß der Einbau von Sulfatgruppen in isolierte tierische mucopolysaccharidhaltige Gewebe einen energiefordernden enzymatischen Prozeß darstellt, dessen Ablauf durch Zusatz von Glucose und Natriumpyruvat stimuliert und durch Zusatz von Natriumfluoroacetat, 2,4-Dinitrophenol, Phenol und Salicylsäure gehemmt wird (BOSTRÖM, BOYD u. NEUMANN; PASTERNAK u. KENT). Autoradiographische Untersuchungen an der Kaninchencornea haben außerdem den Beweis erbracht, daß die Wundheilungsvorgänge mit einer vermehrten Sulfataufnahme im Bereiche der Verletzungsstellen einhergehen (DUNNINGTON u. SMELSER; DOHLMAN). Unsere Untersuchungsergebnisse lassen erkennen, daß α-Chymotrypsin in bei bulbuseröffnenden Operationen verwendeten Konzentrationen den Einbau von S^{35}-Sulfat in die Gewebe der isolierten überlebenden Kalbscornea in signifikanter Weise zu hemmen vermag, wenn es entsprechend lange (45 min) einwirkt. Es führt demnach zu einer Verlangsamung von Stoffwechselvorgängen, die sowohl für das Klarbleiben der Hornhaut als auch für die bei der Wundheilung einsetzenden reparatorischen Vorgänge von Bedeutung sind.

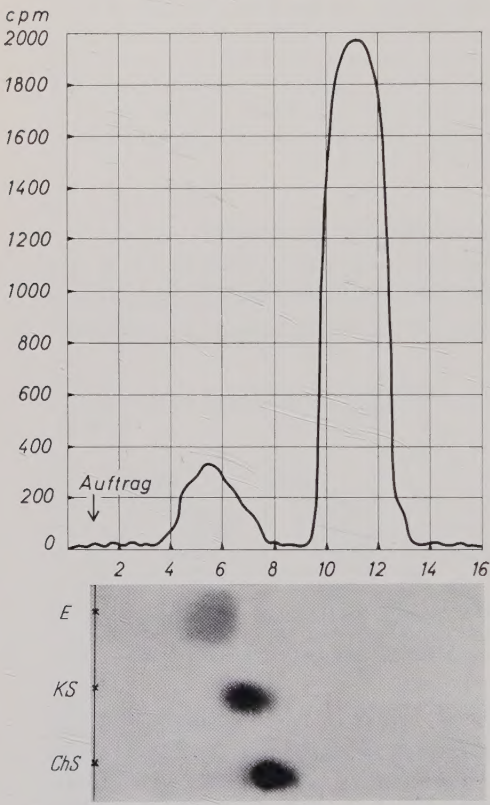


Abb. 3. Elektropherogramm der wasserlöslichen mucopolysaccharidhaltigen Fraktion eines Hornhautextraktes (*E*) und gereinigter Sulfomucopolysaccharide (*KS* Keratosulfat; *ChS* Chondroitinsulfat), mit Toluidinblau sichtbar gemacht. Radioelektropherogramm, hergestellt unter den gleichen Versuchsbedingungen vom gleichen Hornhautextrakt (cpm = counts per minute)

Zusammenfassung

α-Chymotrypsin führt in den Konzentrationen 1:5000 und 1:10000 und einer Einwirkungsdauer von 5 und 45 min zu einem Abfall der Aufnahme von S^{35}-Sulfat in die Ester-Sulfat-Fraktion der isolierten überlebenden Kalbshornhaut. Die bei Verwendung der Konzentrationen 1:5000 und 1:10000 nach einer Einwirkungszeit von 45 min erhaltenen Resultate konnten statistisch gesichert werden.

Literatur

Ainslie, D.: Cataract extraction with the aid of alpha-chymo-trypsin. Brit. J Ophthal. **43**, 200 (1959).

Appelmans, M., J. Michiels, P. de Baker et R. Alaerts: Action de l'α-Chymotrypsine sur la corneé du lapin. D. F. P. est-il antidote? Bull. Soc. belge Ophtal. **120**, 543—571 (1959).

Boström, H.: On the sulfate exchange of sulfo-mucopolysaccharides. In G. Asboe-Hansen, Connective tissue in health and disease, p. 97. Copenhagen: Einar Munksgaard 1954.

—, and E. Jorpes: On the enzymatic exchange of the sulphate group of the animal sulphomucopolysaccharides. Experientia (Basel) **10**, 392 (1954).

—, and B. Mansson: Exchange of the acetyl group of chondroitin sulphuric acid in slices of cartilage. Acta chem. scand. **6**, 1559 (1952).

Boyd, E. S., and W. F. Neumann: Chondroitin sulfate synthesis and respiration in chick embryonic cartilage. Arch. Biochem. **51**, 475 (1954).

Clemens, H. J.: Über die Kittsubstanzen in der Propria corneae des Rindes. Acta histochem. (Jena) **1**, 287 (1954/55).

Dohlman, C. H.: Incorporation of radioactive sulfate into the rabbit eye. Acta ophthal (Kbh.) **35**, 115—130 (1957).

— On the metabolism of the corneal graft. Acta ophthal. (Kbh.) **35**, 303 (1957).

—, and H. Boström: Uptake of sulfate by mucopolysaccharides in the rat cornea and sclera. Acta ophthal. (Kbh.) **33**, 455 (1955).

Dollfus, M. A., et M. Massin: Comparaison des résultats des interventions pour cataracte effectuées avec et sans alphachymotrypsine. Ann. Oculist (Paris) **193**, 369 (1960).

Dunnington, J. H., and G. K. Smelser: Incorporation of S^{35} in healing wounds in normal and devitalized corneas. Arch. Ophthal. (Chicago) **60**, 116—129 (1958).

Fanta, H.: Diskussionsbemerkung zum Vortrag E. Walser, $1^1/_2$ Jahre Erfahrungen mit fermentativer Zonulolyse nach Barraquer. Ber. dtsch. ophthal. Ges. **62**, 262 (1959).

—, u. I. Herold: Spätfolgen nach enzymatischer Zonulolyse. Klin. Mbl. Augenheilk. **136**, 506 (1960).

Fuchs, J.: Zur enzymatischen Zonulolyse durch Alpha-Chymotrypsin bei der Staroperation. Klin. Mbl. Augenheilk. **135**, 52 (1959).

Gardell, S.: The mucopolysaccharides of nucleus pulposus. Acta chem. scand. **9**, 1035 (1955).

Gibian, H.: Mucopolysaccharide und Mucopolysaccharidasen. Wien: Deuticke 1959.

Heringa, G. C., u. A. Weidinger: Onderzoekingen over den bouw en de beteekenis van het bindweefsel. Ned. T. Geneesk. **84**, 4907 (1940).

Hill, D. W.: Corneal vascularisation after cataract extraction by zonulysis. Brit. J. Ophthal. **43**, 325 (1959).

Hofmann, H., u. F. Lembeck: Vergleich der zonulolytischen Wirkung von Alpha-Chymotrypsin und Trypsin. Klin. Mbl. Augenheilk. **134**, 316 (1959).

— — Versuche über den Wirkungsmechanismus zonulolytischer Fermente. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **162**, 111 (1960).

Hosemann, H.: Die Grundlagen der statistischen Methoden für Mediziner und Biologen, S. 74/75. Stuttgart 1949.

Larsen, G.: An autoradiographic study on the uptake of S^{35}-labeled sodium sulfate in the eyes or normal, scorbutic and hormonal treated guinea pigs. Amer. J. Ophthal. **47**, 519—529 (1959).

Lembeck, F., u. H. Hofmann: Weitere experimentelle Untersuchungen zur enzymatischen Zonulolyse. Klin. Mbl. Augenheilk. **135**, 232 (1959).

Leyns, W. F.: Water binding capacity of cornea. Acta brev. neerl. Physiol. **10**, 25 (1940).

Lisch, K.: Diskussionsbemerkung zum Vortrag E. Walser: $1^1/_2$ Jahre Erfahrungen mit fermentativer Zonulolyse nach Barraquer. Ber. dtsch. ophthal. Ges. **62**, 262 (1959).

Meyer, K., A. Linker, E. A. Davidson and B. Weissmann: The mucopolysaccharides of bovine cornea. J. biol. Chem. **205**, 611—616 (1953).

Mylius, K.: Diskussionsbemerkung zum Vortrag E. Walser: $1^1/_2$ Jahre Erfahrungen mit fermentativer Zonulolyse nach Barraquer. Ber. dtsch. ophthal. Ges. **62**, 263 (1959).

Nathaniel, A., and R. Z. Levene: Mucopolysaccharide sulfate in the cornea and sclera of rabbits. Arch. Ophthal. (Chicago) **61**, 641—646 (1959).

Odeblad, E., and H. Boström: An autoradiographic study of the incorporation of S^{35}-labelled sodium sulfate in different organs of adult rats and rabbits. Acta path. microbiol. scand. **31**, 339 (1952).

Pasternak, C. A., and P. W. Kent: Biosynthesis of intestinal mucins. 2. Incorporation of (S^{35})sulphate by guinea-pig colon in vitro. Biochem. J. **68**, 452—457 (1958).

Pogell, B. M., and D. F. Koenig: Studies on mucopolysaccharide biosynthesis in the cornea. J. biol. Chem. **234**, 10, 2504 (1959).

Polatnik, J., A. J. la Tessa and H. M. Katzin: Comparison of bovine corneal and scleral mucopolysaccharides. Biochim. biophys. Acta **26**, 361 (1957).

Radnót, M., and R. Pajor: Effect of alpha chymotrypsin on the cornea. Amer. J. Ophthal. **51**, 598 (1961).

Roden, L.: Isolation and identification of a liver factor stimulating the incorporation of S^{35}-labelled sulphate into chondroitin sulphuric acid in vitro. Ark. Kemi **10**, 325 (1957).

Rienits, K. G.: The electrophoresis of acid mucopolysaccharides on filter paper. Biochem. J. **53**, 79 (1953).

Suda, M.: Incorporation of inorganic S^{35}-sulfate into sulfated mucopolysaccharides in the rabbit cornea. Jap. J. Ophthal. **2**, 271 (1958). Zit. Klin. Mbl. Augenheilk. **136**, 587 (1960).

Steinvorth, E.: Papierelektrophoretische Untersuchungen über den Einfluß des Alpha-Chymotrypsins auf die wasserlöslichen Proteine des Kalbshornhautepithels. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **160**, 588 (1959).

Werner, I., and L. Odin: Studies on protein-bound carbohydrates by means of paper partition chromatography. Acta Soc. Med. upsalien. **53/54**, 70 (1948/49).

Woodin, A. M.: Interaction between proteins and mucopolysaccharides in the cornea. Acta XVII. Conc. Ophth. (1954) **1**, 475 (1955).

Wortman, B., and J. L. Strominger: Incorporation of inorganic sulfate-S^{35} into sulfated mucopolysaccharides of cornea in vitro. Amer. J. Ophthal. **44**, 291—297 (1957).

Priv.-Doz. Dr. William Münich,
Würzburg, Universitäts-Augenklinik, Röntgenring 12

v. Graefes Archiv für Ophthalmologie 164, 151—155 (1961)

Aus der Clínica Alemana, Córdoba (Argentinien)
(Direktor: Prof. Dr. P. Busse Grawitz)

In welcher Minimalzeit kann die Hornhaut in situ Gewebeleukocyten bilden?

Von

P. Busse Grawitz

Mit 2 Textabbildungen

Fragestellung

Die Bildung leukocytärer Entzündungszellen ist ein Verteidigungsvorgang, der seiner Bestimmung entsprechend mit größtmöglicher Schnelligkeit erfolgen muß.

Im subcutenen Bindegewebe der Kaninchen wurde die Metamorphose von Kernen in eosinophil granulierte polynucleäre Gewebeleukocyten innerhalb 1 min beobachtet[2]. Hegemann und Hoffmann beschrieben die leukocytäre Umbildung von Darmepithelien in „weniger als 10 min“[3]. Fasske berichtet von der Bildung leukocytärer Zellen in „wesentlich schneller als 20 min“[7].

Wie rasch verläuft nun dieser Vorgang im bradytropen Gewebe der Cornea? Die Beantwortung dieser Frage ist nicht nur für die Grundlagenforschung von Bedeutung, sondern sie zeigt, wie wir sehen werden, dem praktizierenden Ophthalmologen die antiphlogistische Schutzwirkung des Lidschlusses bei Hornhautaffektionen.

Eine Keratitis vollzieht sich je nach dem Ort der Reizung auf Grund von zwei verschiedenen Mechanismen: Die zentrale Hornhautentzündung beginnt, sobald genug Abbaufaktor, der von der konkomitant entzündeten Conjunctiva an die Tränenflüssigkeit abgegeben wird, das geschädigte Hornhautgewebe erreicht. Die Randkeratitis setzt ein, sobald die vom Randschlingennetz erfolgende Plasmadiapedese an das alarmierte Gewebe gelangt. Beide Formen der Hornhautentzündung müssen also in gesonderten Experimenten untersucht werden.

Zentrale Keratitis

Das geeignetste Studienobjekt ist die aseptische zentrale Hornhautwunde, weil bei dieser die entzündliche Tränenflüssigkeit unmittelbar an das alarmierte, in seiner Reaktionsfähigkeit durch keine chemisch physikalische Schädigung beeinträchtigte Hornhautgewebe gelangt[4]. Da frühere Versuche mit zentraler Silbernitratätzung ergeben hatten[3], daß bei geöffneten Lidern die reaktive Entzündung schneller und intensiver erfolgt als bei geschlossenen, wurden diese Versuche in zwei Reihen vorgenommen, nämlich an offen gelassenen und an geschlossenen Augen. In allen Versuchen wurde an jungen, etwa 1 kg schweren Kaninchen an dem vorübergehend herausluxierten Auge mit einer Rasierklinge ein flacher, etwa 1 mm tiefer, nicht perforierender Schnitt in der Richtung des Lidspaltes ausgeführt.

Bei einer Serie wurde das Auge lediglich in die Orbita zurückversenkt, in einer zweiten zusätzlich die Lider mit Michelschen Klammern verschlossen. Nach Ablauf der festgesetzten Versuchsdauer (1—6 Std) wurde das Tier getötet und die Hornhäute an Tangentialschnitten, die senkrecht zur Wunde gelegt wurden, histologisch untersucht.

Das Ergebnis ist aus Tabelle 1 ersichtlich. Aus ihr geht hervor, daß die Bildung von Gewebeleukocyten in den Wundrändern bei geöffneten Lidern frühestens nach $1^1/_4$ Std, bei geschlossenen nach $2^1/_2$ Std erfolgt. Regelmäßig war die Reaktion nach 2 bzw. 3 Std eingetreten. Die raschere Entzündung bei geöffneten Lidern erklärt sich daraus, daß die Reizung der Conjunctiva (beim Menschen durch das Sandkorngefühl bemerkbar) bei bewegten Lidern intensiver ist als bei unbewegten.

Tabelle 1. *Aseptische zentrale Hornhautwunden bei primär ungereizter Conjunctiva* (B = die maximale Reaktion beschränkt sich auf Verbreiterung und geringe Differenzierung der Hornhautkörper; C = außerdem Bildung leukocytoider Elemente; *D* = außerdem Bildung leukocytärer Zellen; *I* = außerdem Substution der Intercellularsubstanz. Jeder Buchstabe entspricht einem Versuch.)

Lid offen	Std.	Lid zu
B B	1	
C B *D*	$1^1/_4$	
C C *D*	$1^1/_2$	
I C *D*	$1^3/_4$	B B
D I D	2	B C B
D I	$2^1/_2$	C *D*
D D	3	*I D D*
	$3^1/_2$	C *D D*
D	4	*I D*
	$4^1/_2$	*I I*
D I	5	*D I*
I I	6	

Da die beginnende Keratitis eine Funktion des in der entzündlichen Tränenflüssigkeit enthaltenen Abbaufaktors ist, so muß sie logischerweise früher erfolgen, wenn vor der Verwundung die Conjunctiva entzündet ist.

Eine solche Conjunctivitis kann experimentell auf verschiedene Weise hervorgerufen werden; es muß aber bei diesen Versuchen darauf geachtet werden, daß der die Bindehaut treffende Reiz nicht auch gleichzeitig die Cornea erreicht, wie das etwa bei Einträufelung von Silbernitratlösung oder bei Einlegen eines Fremdkörpers unter die Lider der Fall ist. Bei solchen Versuchsanordnungen tritt in der in Frage kommenden Zeitspanne eine Randkeratitis auf, von der denkbar wäre, daß sie auch das Hornhautzentrum zusätzlich alarmieren könnte. Dagegen erwies sich als brauchbare Methode die Unterspritzung der Bindehaut von der Haut aus mit Bouillon lebender Staphylokokken, wobei das Nicklid nicht vergessen werden darf. Diese Injektionen erfolgten etwa 12 Std vor der Wundsetzung. Das zusätzliche Legen einer Wollfadenschlinge um den Stil des Augapfels hatte keinen merklichen Einfluß auf die Ergebnisse, die in Tabelle 2 zusammengestellt werden. Aus ihr geht hervor, daß die ersten Gewebeleukocyten nach 1 bzw. $1^3/_4$ Std gebildet werden und daß leukocytäre Zellen regelmäßig nach $1^1/_2$ bzw. 2 Std angetroffen werden.

Es sei hinzugefügt, daß das Zwischenschalten von Fremdkörpern zwischen Bindehaut und Hornhaut den Eintritt der Entzündung verzögert, weil der Abbaufaktor auf dem längeren Weg zur Cornea zerfällt. So hatte sich ergeben[6], daß nach Auflegen einer doppelten Lage von Nylongewebe plus Kanüle auf eine Hornhaut mit Schnittwunde leukocytäre Zellen in den Wundrändern nach $2^1/_2$ Std niemals und erst nach $5^1/_2$ Std regelmäßig gebildet waren. Beim Auflegen 1—3 mm hoher Kapseln war die Verzögerung der primären Entzündung trotz des starken Fremdkörperreizes noch größer, soweit sie nicht überhaupt ausblieb[3]. Nach Zwischenschalten von drei Lagen Filtrierpapier oder von Membranfiltern fanden sich leukocytäre Zellen erst nach 6—9 Std[5], nach zentraler Reizung der Hornhaut mit dem Silbernitratstift bei offenen Lidern erst nach 12—21 Std, bei geschlossenen (aber nur in einem Teil der Versuche) nach 18—21 Std[3], weil in diesen Fällen das intaktgebliebene Corneaepithel den Zutritt des Abbaufaktors zum Hornhautgewebe verzögerte und weil das perifokale Gewebe chemisch geschädigt war und deshalb träger (und abortiv) reagierte.

Tabelle 2. *Aseptische zentrale Hornhautwunden bei bereits bestehender starker Conjunctivitis* (Zeichenerklärung wie bei Tabelle 1.)

Lid offen	Std.	Lid zu
B B	$^1/_2$	B B
B B	$^3/_4$	B B
C B C	1	B B
I B B	$1^1/_4$	B B
B *I* C *I*	$1^1/_2$	C B B
D C	$1^3/_4$	*D* C *I*
I *I*	2	*D* *I* *D*

Randkeratitis

Diese beginnt immer am Limbus. Sie tritt um so früher und stärker auf, je näher am Limbus der Reiz erfolgt und je intensiver er seiner Natur nach ist. Da bei zunehmender Annäherung auch das limbale Gewebe zunehmend geschädigt und in seiner Reaktionsfähigkeit gehemmt wird, sind der optimalen Reizbeantwortung Grenzen gesetzt.

Es wurde so vorgegangen, daß ein meißelförmig zugespitzter Silbernitratstift in spitzem Winkel zur Sklera 20 sec auf den Limbus corneae gedrückt wurde. Nach Ablauf der Versuchszeit wurde das Kaninchen getötet und Serienschnitte durch den schmalen spitzwinkeligen Sektor des nicht geätzten limbalen Hornhautabschnittes gemacht. In einer zweiten Versuchsreihe wurde nahe dem Limbus eine Hornhautquaddel mit Bouillon mit lebenden Staphylokokken derart gesetzt, daß ihre Peripherie die Sklera gerade berührte, und dann analog vorgegangen.

Tabelle 3. *Randkeratitis nach marginaler Silbernitratätzung bzw. Staphylokokkeninjektion* (Zeichen wie bei Tabelle 1)

Silbernitrat	Min	Staphylokokken
B B	20	B B
C B	30	*D* B C
C *D*	40	*D* *D*
C C *D*	60	*D* *I*

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 3 ersichtlich. Die erste Bildung leukocytoider (präleukocytärer) und leukocytärer Formen erfolgt vom Limbus aus. Sehr instruktiv sind dabei die Vorstadien, die zu Zeit-

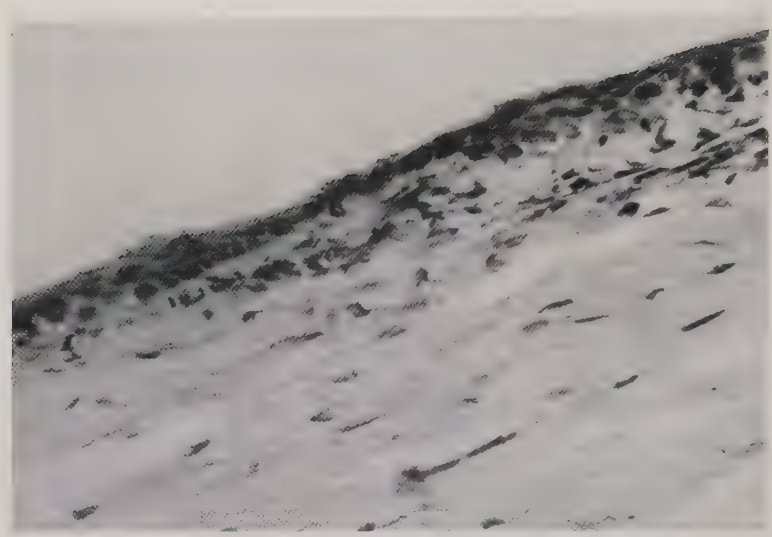


Abb. 1. Übersicht der limbalen Hornhautreaktion 30 min nach Silbernitratätzung, d. h. 10 min bevor frühestens leukocytäre Zellen gebildet werden (Objektiv 40)

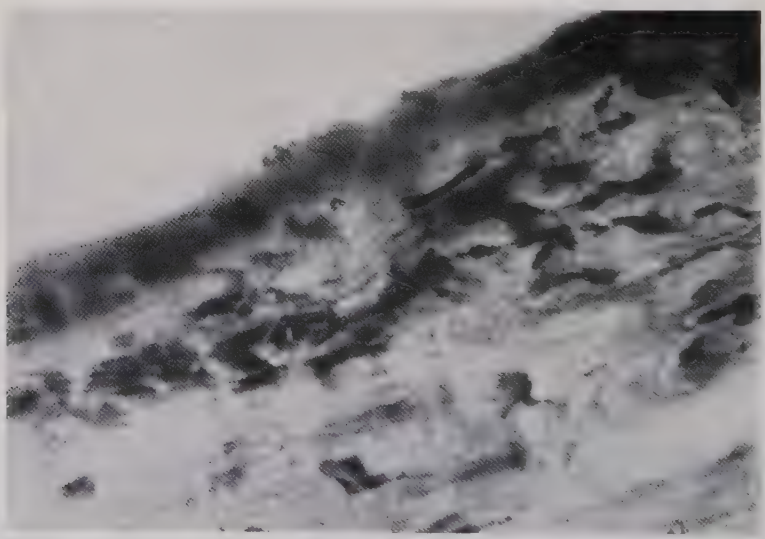


Abb. 2. Gleiches Bild stärker vergrößert: Die erste Entzündungsreaktion besteht morphologisch in einer Hyperchromatose mit gleichzeitiger Differenzierung von (zuerst noch ungranuliertem) acidophilem Protoplasma, das in der ruhenden kernarmen Kaninchenhornhaut fehlt. Diese Prozesse bilden das Vorstadium zu den Bildern, die man als „eingewanderte, in Reihen marschierende Leukocyten" deutete (Ölimmersion)

punkten auftreten, zu denen niemals fertige Gewebeleukocyten beobachtet werden (Abb. 1 und 2), was ihre Deutung als „eingewanderte zerfallene Leukocyten" ausschließt.

Zusammenfassung

Die Minimalzeit zur Bildung von Gewebeleukocyten beträgt bei der zentralen Keratitis 1 Std und bei der Randkeratitis 30 min. Bei der zentralen Keratitis ist der Zeitpunkt des Auftretens der ersten Entzündungszellen abhängig von dem Entzündungszustand der Bindehaut, von der Zeit, die der in der Conjunctiva gebildete Abbaufaktor braucht, um zum Hornhautgewebe zu gelangen, und von dem Grad der Schädigung des letzteren; die Randkeratitis tritt um so rascher ein, je näher am Limbus der Reiz erfolgt und je stärker er ist.

Die Ergebnisse lehren, daß Hornhautentzündungen bei geschlossenen Lidern milder verlaufen als bei geöffneten.

Literatur

[1] Busse Grawitz, E. G.: Experimentelle Keratitis durch Silbernitratinstillation in den Conjunctivalsack. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **156**, 207—210 (1955).

[2] Busse Grawitz, P.: Der Beginn des Entzündungsprozesses im Bindegewebe. Virchows Arch. path. Anat. **321**, 62—76 (1951).

[3] — Weitere Beiträge zur Physiologie der Keratitis. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **159**, 459—485 (1958).

[4] — Der Einfluß der entzündlichen Tränenflüssigkeit auf die Keratitis. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **160**, 388—410 (1958).

[5] — Orientierende Versuche zum Chemismus der Entzündungsfaktoren („Abbaufaktor") in der Tränenflüssigkeit. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **162**, 447—454 (1960).

[6] — Der Entzündungsfaktor („Abbaufaktor") ist über 2400mal kleiner als Leukocyten. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **163**, 376—381 (1961).

[7] Fasske, E.: Das System der „taches laiteuses". Verh. Dtsch. Ges. Path. (1961, im Druck).

[8] Hegemann, F.: Über der praktischen Wert der zytologischen Gallensaftuntersuchung. Dtsch. med. Wschr. **83**, 1987—1990 (1958).

Prof. Dr. P. Busse Grawitz, Calle Esquiú 247, Córdoba (Argentinien)

v. Graefes Archiv für Ophthalmologie 164, 156—162 (1961)

Aus dem Institut für experimentelle Ophthalmologie, Bonn
(Direktor: Prof. Dr. H. K. Müller)

Die Aktivität der Milchsäuredehydrogenase in tierischen und menschlichen Augenlinsen* **

Von

U. Dardenne und G. Drechsler

Mit 1 Textabbildung

Im Rahmen der Untersuchungen über altersabhängige Stoffwechseländerungen der Linse wurden bisher zahlreiche Fermente, insbesondere die des Kohlenhydratstoffwechsels untersucht. Die Hexokinase (Süllmann; Santoni; Müller; Weekers und Süllmann; Pignalosa; Palm; Milano; van Heyningen und Pirie; Nordmann), die Phosphofruktokinase (Mandel und Izraelewicz), die Aldolase (Müller; Dardenne, Kleifeld und Schaefer; Dardenne und Schaefer), die Triosephosphatdehydrogenase (Mandel und Izraelewicz), die Phosphoglyceromutase (Dardenne), die Enolase (Müller u. Mitarb.; Dardenne), das Coenzym A (Dardenne und Pütter: Pütter und Dardenne), die Codehydrase I (Klethi und Mandel; Dardenne und Kirsten) und die Codehydrase II (Klethi und Mandel). Bei all diesen Fermenten zeigte sich immer wieder eine Abnahme der Fermentaktivität mit zunehmendem Lebensalter. Untersuchte man nicht nur die ganzen Linsen, sondern auch deren einzelne Schichten, so fand man die geringste Fermentaktivität stets im Kern der alten Linse, also im ältesten Anteil des Linsengewebes. Der glykolytische Abbau der Kohlenhydrate hat in der Linse großen Anteil an der Energiegewinnung dieses Organs. Trotzdem wurde das einzige Ferment, welches ausschließlich bei dem anaeroben Abbau des Zuckers beteiligt ist, nämlich die Milchsäuredehydrogenase, bisher nicht auf eine eventuelle altersabhängige Änderung ihrer Aktivität hin untersucht. Das Ferment selbst wurde durch van Heyningen und Pirie in der Linse nachgewiesen. Die Autoren fanden eine Aktivierung des Ferments durch DPN und eine Hemmung durch TPN.

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir die Aktivität der Milchsäuredehydrogenase nicht nur in ganzen Linsen, sondern auch in den einzelnen Schichten junger und alter Linsen. Außerdem wurde die Fermentaktivität in einigen normalen und kataraktösen menschlichen

* Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung der Arbeit.

** Fräulein Th. Juretzek danken wir für die technische Assistenz.

Linsen miteinander verglichen. Wir benutzten dazu den optisch-enzymatischen Test, wie ihn Warburg entwickelt hat (Warburg und Christian).

I. Präparation und Aufarbeitung der Gewebe

1. Gesamtlinsenextrakt. Sofort nach dem Tod der Tiere wurden im Schlachthaus die Linsen entnommen und vorsichtig auf Fließpapier gesäubert, um eventuelle Iris- und Glaskörperreste zu entfernen. Die Linsen wurden anschließend in einem Kunststoffbehälter mit Heptan, der in einer Kältemischung stand, bestehend aus Kohlensäureeis und Alkohol, eingefroren. Während des Transports wurden die gefrorenen Linsen in einem leeren Kunststoffbehälter auf Trockeneis aufbewahrt. Die Linsen wurden im Gewichtsverhältnis 1:100 mit Kaliumphosphatpuffer p_H 7,6 (Sörensen) unter Kühlung homogenisiert. Das Homogenat wurde 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert und der überstehende Extrakt zum Versuch verwendet. Für unsere Untersuchungen wurden nur Kälber- und Rinderlinsen mit einem bestimmten Gewicht genommen. Das Gewicht der Kälberlinsen hielt sich in den Grenzen von 800—1100 mg und das der Rinderlinsen in den Grenzen von 2200 bis 2600 mg.

2. Extrakte einzelner Linsenschichten. Die Extrakte der verglichenen Linsenschichten stammten immer nur von einer Linse, da es uns auf einen genauen Vergleich der Fermentaktivitäten innerhalb einer Linse ankam.

a) Linsenepithel und kernhaltige Zone. Das Epithel wurde auf folgende Weise präpariert: die gefrorenen Linsen wurden mit der Vorderfläche auf einen Objektträger gelegt. Die Kapseln wurden am Äquator zirkulär durchtrennt und die Hinterkapseln verworfen. Mit einem Graefe-Messer wurden von der hartgefrorenen Linse die Vorderkapsel mit Epithelzellen sowie die zellkernhaltigen Zonen des Äquators abgetrennt. Diese Gewebe wurden wie oben angegeben homogenisiert und zentrifugiert. Es muß darauf geachtet werden, daß die Linsen während dieser Präparation nicht auftauen.

b) Linsenrinde und -kern. Nach der Entfernung des Epithels und der zellkernhaltigen Äquatorzonen wurde mit einem Trepan ein axialer Zylinder ausgestanzt. Der verbleibende Ring und die vorderen und hinteren Schichten des axialen Zylinders wurden als Rinde bezeichnet. Die Mitte des axialen Zylinders betrachten wir als Linsenkern. Sowohl Rinde als auch Kern wurden nach der angegebenen Methode homogenisiert und zentrifugiert.

II. Bestimmung der Fermentaktivität

Zur Aktivitätsbestimmung benutzten wir den von Warburg entwickelten optischen Test und bedienten uns hierbei der von der Firma Boehringer gelieferten Testpackung.

Das Enzym Milchsäuredehydrogenase (MDH) katalysiert die Reaktion

$$\text{MS} + \text{DPN} \rightleftharpoons \text{BTS} + \text{DPN—H} + \text{H}^+$$

(MS = Milchsäure, DPN = oxyd. Diphosphopyridinnucleotid, BTS = Brenztraubensäure, DPN—H = red. Diphosphopyridinnucleotid).

Das Gleichgewicht der Reaktion liegt auf der Seite der Milchsäure, denn die Milchsäurebildung ist ein exergonischer Vorgang. In dem angewandten optisch-enzymatischen Test wird die Aktivität der MDH auf Grund der Messung des zeitlichen Umsatzes von BTS und DPN—H bestimmt. Die Hydrierung der BTS geht mit einer Abnahme der spezifischen Extinktion des DPN—H bei 344 mμ einher. Die Abnahme der Lichtabsorption bei 344 mμ ist das Maß für die Abnahme des

DPN—H in der zu prüfenden Lösung. Weil das DPN-H im stöchiometrischen Verhältnis zur BTS umgesetzt wird, dient es als Meßgröße für die gebildete Milchsäure.

Bei der Aktivitätsbestimmung eines Fermentes wird unter Substrat- und Co-Enzymüberschuß gearbeitet. Aus diesem Grund ist die in der Lösung vorhandene Fermentaktivität der limitierende Faktor obiger Reaktion und aus der in der Zeiteinheit umgesetzten Menge DPN-H direkt zu erkennen. Ein Leerwert ist bei diesem Versuchsansatz nicht erforderlich. Jedoch wurde durch mehrere Vorversuche festgestellt, ob auch andere als das interessierende Ferment mit linseneigenen Substraten reagieren, sobald der DPN-H-Überschuß zugegeben wird. Man müßte sonst den Stillstand dieser nicht interessierenden Reaktion abwarten, bevor es zum Start mit dem zugegebenen spezifischen Substrat kommt. Unsere Vorversuche zeigten, daß keine derartige Reaktion unseren Versuchsablauf störte (s. Abb. 1). Ohne Zusatz von Brenztraubensäure erfolgte keine Extinktionsabnahme im für DPN-H spezifischen Absorptionsbereich.

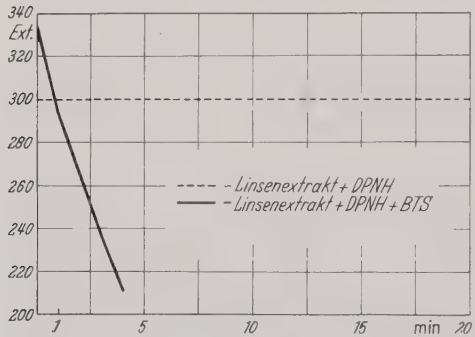


Abb. 1. Kurvenverlauf von Linsenextrakten nach Zugabe von DPNH mit und ohne BTS-Zugabe

Unser Versuchsansatz setzt sich wie folgt zusammen:

2,925 ml Ph/BTS p_H 7,6,
0,050 ml DPN-H,
0,200 ml Linsenextrakt.

Der Versuch lief in einem thermokonstanten Küvettenhalter bei 25° C im Photometer Eppendorf ab. Die Schichtdicke der Küvette betrug 10 mm.

In Abständen von 1 min wurde der Extinktionsabfall Δ E 10 min lang verfolgt. Der Durchschnittswert für Δ E im geradlinigen Anteil des Kurvenverlaufs dient zur Berechnung der Enzymaktivität. Nach Bücher ist eine Enzym-Einheit die Enzymmenge, die bei 25° C die DPN-H-Extinktion bei 366 mμ in 100 sec um 0,100 ändert (bezogen auf 1 ml und die 10 mm Küvette), also 0,030 μMol/ml DPN-H umsetzt.

Es ergibt sich demnach bei einem Ansatz von 3,175 ml mit 0,2 ml Gewebeextrakt wie im Versuchsansatz angegeben für 1 min = 60 sec:

$$\frac{\Delta E^{366}}{0{,}100} \cdot \frac{100}{60} \cdot \frac{3{,}175}{0{,}2} = \Delta E^{366} \cdot 264{,}5 = \text{Einheiten/ml Gewebeextrakt.}$$

Ergebnisse und Besprechung

In Tabelle 1 sind die Aktivitäten der Milchsäuredehydrogenase in 1000 mg Frischgewicht von ganzen Kälberlinsen der Fermentaktivität, welche sich in derselben Gewichtseinheit von ganzen Rinderlinsen findet, gegenübergestellt. Bei derartigen Vergleichsuntersuchungen, bei denen lediglich Gesamtlinsen miteinander verglichen werden, findet sich in den Linsen junger Tiere mehr als die dreifache Fermentaktivität der alten Linsen. Dieser Befund entspricht dem höheren Milchsäuregehalt in Kälberlinsen im Vergleich zu Rinderlinsen, wie er von mehreren Autoren beschrieben worden ist.

Vergleicht man jedoch die einzelnen Schichten der jungen und alten Linsen miteinander, so erkennt man deutlich, daß sich aus vergleichenden Untersuchungen von ganzen Linsen keine richtigen Aussagen über altersabhängige Stoffwechseländerungen gewinnen lassen. Bei fast allen in der Einleitung zitierten Untersuchungen über das Verhalten der Fermentaktivitäten der Linse in Abhängigkeit vom Lebensalter, beruhte die Abnahme der Fermentaktivität in der alten Linse auf einer besonders starken Verringerung der enzymatischen Leistung im Linsenkern. Bei der Milchsäuredehydrogenase, dem rein glykolytischen Ferment scheinen neben dem Altern des Linsengewebes andere Faktoren für die Fermentaktivität eine Rolle zu spielen.

Tabelle 1. *Aktivität der Milchsäuredehydrogenase in jungen und alten Rinderlinsen in Büchereinheiten pro 1000 mg Frischgewicht*

Kälberlinsen	Rinderlinsen
412	106
383	96
399	126
432	108
360	111
Mittelwert: 397,2 ± 12,3	109,4 ± 5,47

Aus Tabelle 2 ist zu ersehen, daß die drei verschiedenen Schichten der Kälberlinse zwar alle drei höhere Fermentaktivitäten besitzen als die entsprechenden Schichten der Rinderlinsen, daß jedoch der Linsenkern bei beiden Altersgruppen die höchste Fermentaktivität aufweist. Die Aktivität ist im Kälberkern außerordentlich hoch. Die geringste Aktivität befindet sich in den Rindenschichten.

Tabelle 2. *Aktivität der Milchsäuredehydrogenase in den einzelnen Schichten junger und alter Rinderlinsen in Büchereinheiten pro 1000 mg Frischgewicht*

Kalb			Rind		
Zellkernhaltige Zone	Rinde	Kern	Zellkernhaltige Zone	Rinde	Kern
386,9	318	837	219	113	246
386,9	325,9	863	132	95	254
413	291	768	68	60	87
325,9	227,8	707	159	95	201
378	280	874	121	87	148
	265	954		87	113
	318	901		60	121
	318	742		87	132
	243,8	826,8		53	68
	265	879		42	68
	371	862		53	148
	349,8	984		42	121
	227,8	826,8		37	87
				159	227
Mittelwert: 378,3 ± 14,29	292,3 ± 12,6	848 ± 22,4	139 ± 24	76,4 ± 9,3	144,3 ± 17,05
Abnahme in %			63,2	73,8	82,9

Zur Deutung dieser Befunde bieten sich mehrere Erklärungsmöglichkeiten. Grundsätzlich ist darauf hinzuweisen, daß unsere Aktivitätsbestimmungen unter optimalen Bedingungen durchgeführt wurden. Das bedeutet, daß die Milchsäuredehydrogenase in der lebenden Linse nicht unbedingt im Linsenkern diese Fermentaktivität voll ausnutzt. Es sind manche Fermente bekannt, die in der lebenden Zelle eine Reservekapazität besitzen. Andererseits aber werden diese Fermentkapazitäten nach den Gesetzen der adaptiven Fermentbildung nicht mehr synthetisiert, wenn sie nie benötigt werden.

Auf Grund der anatomischen Gegebenheiten ist die Sauerstoffversorgung des Linsenkerns am geringsten. Aus diesem Grund würde es andererseits wenig überraschen, wenn der Kern im wesentlich höheren Maße rein glykolytisch Kohlenhydrate abbaut und deshalb die Milchsäuredehydrogenase in diesem Anteil der Linse stärker aktiv ist, als in den übrigen Schichten. Die entstehende Milchsäure müßte dann aber wieder in die oberflächlichen Linsenschichten diffundieren und dort möglicherweise einer oxydativen Verbrennung zugeführt werden. Sonst wäre es schwer zu deuten, daß von mehreren Untersuchern, auch von uns, der Milchsäuregehalt im Kern niedriger gefunden wurde als in den übrigen Linsenschichten. Eine einfachere Erklärung für die höhere Fermentaktivität der Milchsäuredehydrogenase im Linsenkern und für den außerordentlich hohen Gehalt im Kälberkern wäre die Annahme, daß die Milchsäuredehydrogenase während der embryonalen Entwicklung der Linse in wesentlich größerer Menge gebildet wird als in dem späteren Lebensalter. Dies würde bedeuten, daß die Linsenfaser die Eigenschaft bestimmte Fermenteiweiße zu bilden auch im späteren Lebensalter in gewisser Weise beibehält, obwohl sich die Lebensbedingungen wesentlich ändern. Bei dieser Deutung unserer Befunde, wäre sie eine Bestätigung unserer 1958 veröffentlichten Ergebnisse über die elektrophoretische Verteilung der Eiweißfraktionen in den einzelnen Schichten der Linse in Abhängigkeit vom Lebensalter. Möglicherweise ist die Milchsäuredehydrogenase eng an das γ-Crystallin gebunden, welches von Francois als embryonale Eiweißfraktion bezeichnet wird und im ältesten Teil der Linse am meisten gefunden wird.

Zum Schluß sei noch auf einige Untersuchungen an menschlichen Linsen hingewiesen. In Tabelle 3 sind die Werte von fünf Kataraktlinsen den Fermentaktivitäten von zwei normalen Linsen gegenübergestellt. Bei den Kataraktlinsen handelte es sich ausnahmslos um senile Katarakte; das Lebensalter und der Visus sind angegeben. Die beiden normalen Linsen stammten von Augen, die wegen intraocularer Tumoren enucleiert worden waren. Im Vergleich zu den Rinderlinsen fanden wir die Fermentaktivität in normalen menschlichen Linsen fast eine Zehnerpotenz höher. Auffallend ist jedoch, daß wir bei den beiden normalen

Tabelle 3. *Aktivität der Milchsäuredehydrogenase in Kataraktlinsen und normalen menschlichen Linsen in Büchereinheiten pro 1000 mg Frischgewicht*

Kataraktlinsen				Normale menschliche Linsen		
Gewicht der Linse	Lebensalter in Jahren	Visus	Bücher-Einheiten	Gewicht der Linse	Lebensalter in Jahren	Bücher-Einheiten
177	68	5/70	343	184	43	2436
211	62	5/100	370	146	3	2466
161	71	5/25	1100			
165	76	5/100	953			
216	65	5/33	630			
Mittelwert			$610{,}6 \pm 156$			2451 ± 15

menschlichen Linsen keine, mit dem Alter einhergehende, Abnahme der Milchsäuredehydrogenaseaktivität feststellen konnten.

Zusammenfassung

Mit Hilfe des optisch enzymatischen Tests nach Warburg wurden die Aktivitäten der Milchsäuredehydrogenase in jungen und alten Rinderlinsen, in kataraktösen und normalen Menschenlinsen sowie in den einzelnen Zonen junger und alter Rinderlinsen untersucht und miteinander verglichen. Die Kälberlinsen zeigten eine mehr als doppelt so hohe Aktivität als die Rinderlinsen. Die normalen Menschenlinsen lagen wesentlich höher als die Kataraktlinsen, die in sich sehr streuten, was wohl auf den verschiedenen Grad der Eiweißveränderung zurückzuführen ist. Bei dem Vergleich der einzelnen Zonen waren alle Schichten der Kälberlinsen aktiver als die entsprechenden Zonen der Rinderlinsen. Die höchste Fermentaktivität fand sich auffallenderweise stets im Linsenkern. Diese Verteilung innerhalb der Linse wurde bisher bei keinem der untersuchten Fermente gefunden.

Literatur

Dardenne, U.: Stoffwechselvorgänge in der Linsenkapsel und ihre Abhängigkeit vom Lebensalter. Bericht über die 59. Zusammenkunft der Dtsch. Ophthalm. Ges. in Heidelberg, 1955.

—, u. G. Kirsten: Das Gleichgewicht der oxydierten und reduzierten Co-Dehydrase I in den einzelnen Teilen junger und alter Rinderlinsen. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. (im Druck).

—, O. Kleifeld u. G. Schaefer: Die Altersabhängigkeit der Aldolaseaktivität in den einzelnen Abschnitten der Rinderlinse. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **158**, 172—181 (1956).

—, u. H. Pütter: Über das Vorkommen von Co-Enzym A in der Linse. Bericht über die 60. Zusammenkunft der Dtsch. Ophthalm. Ges. in Heidelberg, 1956.

—, u. G. Schaefer: Über die Beeinflußbarkeit der Aldolase in Rinderlinsen. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **158**, 182—189 (1956).

Francois, J., and M. Rabaey: On the existence of an Embryonic Lens proteins. Arch. Ophthal. (Chicago) **57**, 672 (1957).

Heyningen, R. van, and A. Pirie: Reduction of glutathione coupled with oxydative decarboxylation of malate in cattle lens. Biochem. J. **53**, 436—444 (1953).

Klethi, J., et P. Mandel: Di- et triphosphopyridine nucleotides (DPN et TPN) de cristallins de bovides jeunes et agés. Biochim. biophys. Acta **37**, 549—550 (1960).

Mandel, P., et D. Izraelewicz: Donneés inédites 1953.

Milano, A.: Sul potere fosforilizzante del cristallino umano trasparente e cataratoso. Ann. Ottal. **69**, 175—181 (1941).

Müller, H. K.: Über die Altersveränderungen der Glykolyse in der Linse. Arch. Augenheilk. **110**, 206—215 (1937).

—, U. Dardenne, O. Hockwin, O. Kleifeld u. G. Schafhausen: Altersbedingte Veränderungen im Stoffwechsel der Linse. XVIII. Concilium ophthalmologicum Brüssel 1958.

Nordmann, J.: Biologie du Cristallin. Paris: Masson & Cie. 1954.

Palm, E.: On the Phosphate exchange between the Blood and the eye. Acta ophthal. (Kbh.) Suppl. **32**.

Pignalosa, G.: Il metabolisme del fosforo nel cristallino di conigli sani e paratiroidectomizzati. Ann. Ottal. **67**, 927—945 (1939).

Pütter, J., u. U. Dardenne: Der Gehalt an Coenzym A in jungen, alten und kataraktösen Augenlinsen. Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. **310**, 59—64 (1958).

Santoni, A.: Zit. nach H. K. Müller, O. Kleifeld, U. Dardenne, R. Fuchs u. O. Hockwin, Probleme des Alterns der Linse. Med. Probl. Ophthal. **1**, 85—98 (1956).

Süllmann, H.: Der Kohlenhydratstoffwechsel der Linse. Die Bildung von Phosphorsäureestern in der Linse. Arch. Augenheilk. **110**, 303—320 (1937).

Warburg, O., u. W. Christian: Optischer Nachweis der Hydrierung und Dehydrierung des Pyridins im Gärungsferment. (Kurze Mitt.). Biochem. Z. **286**, 81 (1936).

Weekers, R., u. H. Süllmann: Beziehungen zwischen Phosphatumsatz und Milchsäurebildung in der Linse. Arch. int. Méd. exp. **13**, 483 –497 (1938).

Privatdozent Dr. U. Dardenne,
Institut für experimentelle Ophthalmologie, Bonn a. Rhein

v. Graefes Archiv für Ophthalmologie 164, 163—167 (1961)

Aus der Universitäts-Augenklinik Pécs, Ungarn (Direktor: Prof. Dr. B. Boros)

Pharmakologische Beobachtungen mit Tosmilen am isolierten Irismuskelpräparat

Von

B. Boros und I. Takáts

Mit 5 Textabbildungen

Bei der konservativen Behandlung des akuten und chronischen Glaukoms ist in den letzten Jahrzehnten die Anwendung vieler Anticholinesterasen in den Vordergrund gerückt. Ihre Wirkung beruht bekanntlich auf einer Inaktivierung der Cholinesterase, so daß es im Auge zu einer örtlichen Anreicherung von Acetylcholin kommt, wodurch das Auftreten von Miosis, Ciliarmuskelspasmus und Druckabfall erklärt werden kann.

Zur Glaukombehandlung wurde von Gittler (1956) ein Dekamethylen-bis-Präparat (N-Methylcarbaminsäure-Dimethylaminophenylester-Brommethylat) das Tosmilen, oder kurz BC 48, eingeführt.

Hauptsächlich wegen der ausgeprägten Nebenwirkungen (Ciliarmuskelspasmus, Kopfschmerzen, allgemeine Beschwerden), haben sich die bisherigen über Tosmilen erschienenen Veröffentlichungen mit dem Suchen einer entsprechenden Konzentration, außerdem mit den tonographischen Verhältnissen und der Untersuchung der cholinesterasehemmenden Aktivität befaßt. Über die diesbezüglichen Auswertungen haben Stepanik und Stelzer auf der 4. Jahreshauptversammlung der Gesellschaft österreichischer Augenärzte im Jahre 1959, bzw. Gittler und Pillat bereits früher an anderer Stelle berichtet.

Ein Versuch, auch die pharmakodynamischen Eigenschaften dieses so verbreiteten, äußerst energischen Miotikums zu erfassen und im Vergleiche mit ähnlichen Mitteln, auch in anderer Hinsicht einer Analyse zu unterziehen, dürfte sicherlich einiges Interesse erwecken. Seit mehreren Jahren befassen wir uns an unserer Klinik mit der Untersuchung ähnlicher Fragen am isolierten Irismuskelpräparat. Der Entwicklung unserer Untersuchungsmethodik hat, nach den grundlegenden Untersuchungen von Josef und Poos, die isometrische, dynamographische Methode nach Hess eine neue Richtung und einen Impuls zur Untersuchung der einzelnen Antagonismen in quantitativer Beziehung gegeben. Dies stellt nun, da wir mehrere neue auf die Pupille und den Strahlenkörper wirkende Mittel mit verschiedenen Wirkungsmechanismen besitzen, eine sehr interessante Aufgabe dar. Es ist wahr, daß sich die in vitro Experimente nicht ohne weiteres auf den natürlichen Situs übertragen lassen, weil wir in vivo die Menge des sich im Gewebe

fortwährend neubildenden Acetylcholins, die konzentrationregulierende Rolle der „Esterase-Schutzwelle", das wechselnde Gewebspotential, die Rolle vom Mechanismus des die Esterase-Cholinacetylase auf- und abbauenden Enzyms, dann anderweitige physiko-chemische Einflüsse der Osmose, nicht kennen. Dennoch glauben wir, daß uns die am isolierten Präparat durchgeführten Experimente dem Ziele, die Wirkungsart irgendeiner Droge zu ermitteln, näher bringen. Mein Mitarbeiter Takáts hat eine, auf Grund der Hessschen Methodik erprobte Untersuchungsmöglichkeit ausgearbeitet.

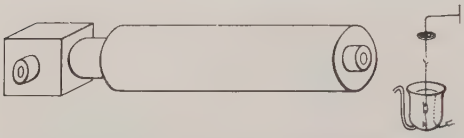


Abb. 1. Schematische Skizze der Einrichtung. In der Badeflüssigkeit aufgehängtes Irissphincterpräparat mit Spiralfeder. Die Exkursionen des Muskels kontrolliert man durch ein Mikroskop mit eingebautem Meßocular

Die ursprüngliche Hesssche Methode haben wir so modifiziert, daß dadurch eine Registrierung der Muskelkraft mit größerer Breitenstufe ermöglicht worden ist. Dies haben wir dadurch erreicht, daß wir den die Muskeltätigkeit übertragenden Hebel nicht aus einer Metallplatte, sondern aus einer Uhrfeder herstellten. Die waagerecht aufgehängte Uhrfeder dehnte sich bei Muskelkontraktion spiralartig

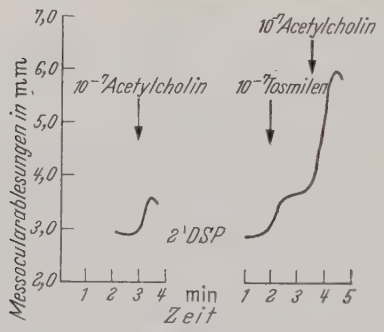


Abb. 2

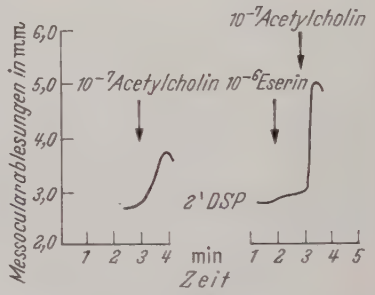


Abb. 3

Abb. 2. Acetylcholinempfindlichkeit des Präparates bei einer Verdünnung von 10^{-7}. Empfindlichkeit dem Tosmilen gegenüber auch bei einer Verdünnung von 10^{-7}. Eine gesteigerte Sensibilisierung gegen Acetylcholin

Abb. 3. Muskelkontraktion auf Acetylcholin und vergleichende Empfindlichkeitsprüfung nach Eserin

aus, ihre Exkursionen wurden mit dem Meßocular eines Mikroskopes beobachtet. Auf diese Art und Weise lassen sich Exkursionsunterschiede von 5/100 mm registrieren (Abb. 1).

Wir führten an 32 Schweine-, 9 Kaninchen-, 2 Meerschweinchen- und 1 menschlichen Irissphincterpräparat vergleichende Untersuchungen über die zwei esterasehemmenden Mittel, das Eserin und Tosmilen aus. Es mußte zunächst jene höchste Tosmilenverdünnung festgestellt werden, welche zur Esterasehemmung noch fähig ist. Wir fanden, daß diese Verdünnung zwischen $10^{-7,4}$ und 10^{-7} lag. Bei der menschlichen Iris ergab sich derselbe Schwellenwert (Abb. 2). Dies stellt eine, dem Eserin gegenüber zehnfache Verdünnung dar (Abb. 3). Die Empfindlichkeit des Muskels dem Acetylcholin gegenüber bewegte sich zwischen 10^{-7} und 10^{-5}.

Eserin und Tosmilen in der obigen Verdünnung steigerten die Empfindlichkeit dem Acetylcholin gegenüber auf das 100—1000fache. Dieses Versuchsergebnis stimmt mit jener Tatsache überein, daß das Tosmilen ein vielfach stärkeres Miotikum darstellt. Nach einer Analyse von Stepanik und Stelzer kann Glaukomkranken 0,25—0,1%iges Tosmilen verabreicht werden. Bei diesen Konzentrationen sind die subjektiven Beschwerden am geringsten. Da nach unserer obigen Feststellung das Tosmilen ein 10mal wirksameres esteraselähmendes Mittel darstellt, ist seine 0,1%ige Lösung noch immer von fünfmal höherer Konzentration als das, in der Praxis gebräuchliche 0,2%ige Eserin. Diese quantitativen

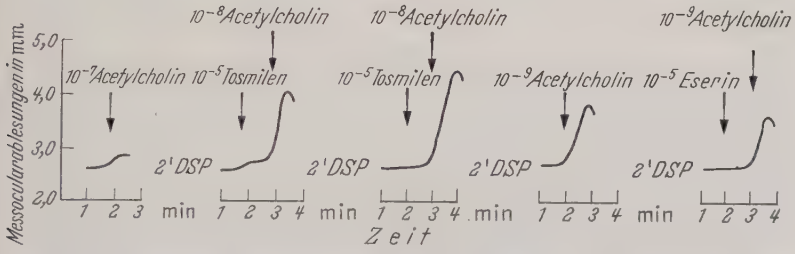


Abb. 4. Nach mehreren Tosmilengaben steigert das Eserin die Empfindlichkeit nicht

Unterschiede lassen sich am isolierten Irismuskelpräparat deutlich analysieren. Das Tosmilen, als ein esteraselähmendes Mittel, bewirkt sogar bei seinem Gebrauche in derselben Konzentration, wie es bei anderen Cholinesterasen üblich ist, dauernde Verringerung des intraocularen Druckes.

Das nächste Ziel der Versuche war die Feststellung dessen, ob sich am isolierten Präparat in der cholinesterase-inaktivierenden Wirkung der beiden esteraselähmenden Mittel ein Unterschied zeigt.

Durch das dem Präparat in großen Dosen (10^{-6}, 10^{-5}) mehrmals zugegebene Tosmilen wurde die ganze Cholinesterasemenge inaktiviert. Unter solchen Umständen steigerte sich die Acetylcholinempfindlichkeit in erhöhtem Maße (10^{-9}:) Hiernach wurde, ebenfalls in großer Dose (10^{-5}) Eserin der Badeflüssigkeit des Muskels zugegeben, und es zeigte sich, daß nunmehr die Acetylcholinempfindlichkeit weiter nicht gesteigert werden konnte (Abb. 4).

Eine ganz gleiche Lage ergab sich, wenn die vollkommene Blockierung der Cholinesterase zuerst mit Eserin durchgeführt und dann erst Tosmilen dem Präparat zugegeben wurde. Demnach ist das Inaktivierungsgebiet der beiden Esteraseinhibitoren identisch (Abb. 5). Auf Grund ihrer klinischen Beobachtungen dachten auch Gittler und Pillat an diese Möglichkeit. Gestützt auf unsere Experimente können auch wir diese Beobachtungen bestätigen.

Es bleibt die Frage offen, wie zwischen der Cholinesterase und dem sie lähmenden Eserin bzw. Tosmilen die pharmakologische Bindung

stattfindet. Da die Dauer der Aktivität bei den beiden Anticholinesterasen verschieden ist, besteht wahrscheinlich auch in der Art der chemischen Bindung ein Unterschied. Man kann sich vorstellen, daß die chemische Bindung in dem einen Fall lose ist, oder daß die reversiblen esteraselähmenden Stoffe von den Enzymen der Muskeln zersetzt werden, die irreversiblen aber unversehrt bleiben.

Die in vitro durchgeführten quantitativen Untersuchungen dienen als Stütze der klinischen Beobachtungen, nach welchen auch das in 0,1%iger Konzentration gegebene Tosmilen vollkommene Lähmung der

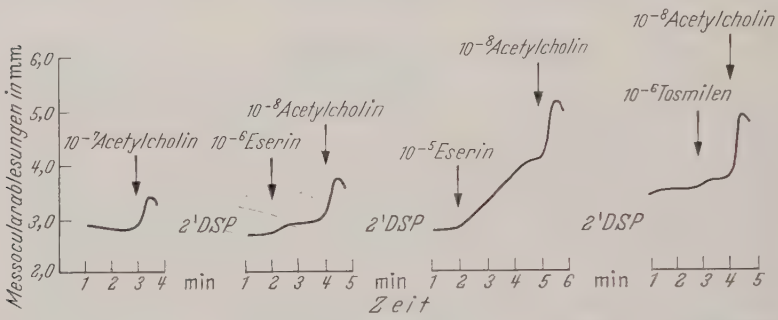


Abb. 5. Nach mit großen Eserindosen stattgefundene Inaktivierung der Cholinesterase erhöhte sich die Acetylcholinempfindlichkeit genau so wie nach Tosmilen

Cholinesterase bewirkt; tatsächlich stellt diese Konzentration jene Wirkungsgrenze dar, bei welcher weniger überflüssiges Tosmilen vorhanden ist, was vom Standpunkt der Nebenwirkung betrachtet, nicht gleichgültig ist. Sollten sich selbst bei dieser Konzentration subjektive Beschwerden zeigen, so kann sogar eine noch niedrigere Konzentration einen befriedigenden Effekt erzielen, da unseres Erachtens das 0,1%ige Tosmilen fünfmal wirksamer ist als das Eserin in derselben Verdünnung, und das Tosmilen seltener eingeträufelt werden kann, als andere Miotika.

Diese quantitativen experimentellen Folgerungen halten wir deshalb für wichtig, weil der praktizierende Augenarzt wegen der tatsächlich häufiger auftretenden subjektiven Symptome, den Gebrauch des Tosmilens allzufrüh aufgibt, obwohl es schade ist, auf seine Vorteile, welche bei entsprechender Konzentration sehr gut ausgenützt werden können, zu verzichten.

Zusammenfassung

Die Autoren untersuchten an 32 Schweine-, 9 Kaninchen-, 2 Meerschweinchen- und einem menschlichen isolierten Irissphincterpräparat die *quantitative* pharmakodynamische Wirkung des Eserins und Tosmilens (BC 48). Nach Bestimmung der Grenzschwelle fanden sie, daß die obigen Miotika in einer Konzentration von 10^{-7}—10^{-5} die Empfind-

lichkeit des Präparates dem Acetylcholin gegenüber auf das 100 bis 1000fache steigern. Das Tosmilen ist ein 10mal wirksamerer Esterase-inhibitor als das Eserin. Die Inaktivierungsgebiete der beiden Miotika stimmen überein. Die in vitro durchgeführten quantitativen Untersuchungen bekräftigen die Ansicht, daß bei der Anwendung des Tosmilens die 0,1%ige Verdünnung jene Grenze darstellt, bei welcher im Irismuskel kein überflüssiges Miotikum mehr vorhanden ist. Falls bei dieser Konzentration das ins Auge eingeträufelte Tosmilen noch subjektive Beschwerden verursacht, kann eine Lösung von niedrigerer Konzentration noch immer einen guten Effekt haben, da ja das 0,1%ige Tosmilen fünfmal wirksamer ist als das Eserin in derselben Konzentration.

Literatur

Boros, B., u. I. Takáts: Pharmakologische Wechselwirkungen am isolierten Irismuskelpräparat. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **163**, 382 (1961).

Gittler, R., O. Kraupp u. B. Pillat: Zur Frage des Wirkungsmechanismus und der Dosierung von Tosmilen-Augentropfen. Klin. Mbl. Augenheilk. **138**, 558 (1961).

—, u. B. Pillat: Die Verwendung von Dekamethylen-bis-(N-methyl-carbaminoyl-m-trimethylammoniumphenol) (BC 48) bei der Therapie des Glaukoms. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **157**, 473 (1956).

Leydhecker, W.: Glaukom. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Stepanik, J., u. R. Stelzer: Tonographische Untersuchung über die Wirkung von — Dekamethylen-bis-(N-methylcarbaminoyl-m-trimethyl-ammoniumphenol) BC 48 — bei Glaucoma simplex. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **161**, 159 (1959).

Professor Dr. B. Boros,
Universitäts-Augenklinik, Pécs/Ungarn,
Garai-u. 1

v. Graefes Archiv für Ophthalmologie 164, 168—173 (1961)

Aus der Augenklinik der Charité, Berlin (Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. K. Velhagen)

Unterschiede im Zapfenteil der Dunkeladaptationskurve nach skotopisch äquivalenter Farbadaptation

Von

A. Pilz

Mit 5 Textabbildungen

Vergleichende Untersuchungen über die Beeinflussung der Dunkeladaptation durch Voradaptation mit verschiedenfarbigem Licht sind mehrfach vorgenommen worden (W. Trendelenburg; Gasteiger; Miles; Rowland, Sloan; Hecht, Hsia; Hulburt). Sowohl bei Verwendung energiegleicher als auch photopisch äquivalenter Farben wurde übereinstimmend die Verkürzung der Dunkeladaptation nach Rotvorbelichtung gefunden, während nach skotopisch äquivalenten, also unter Dunkeladaptationsbedingungen abgeglichenen Farben keine Unter-

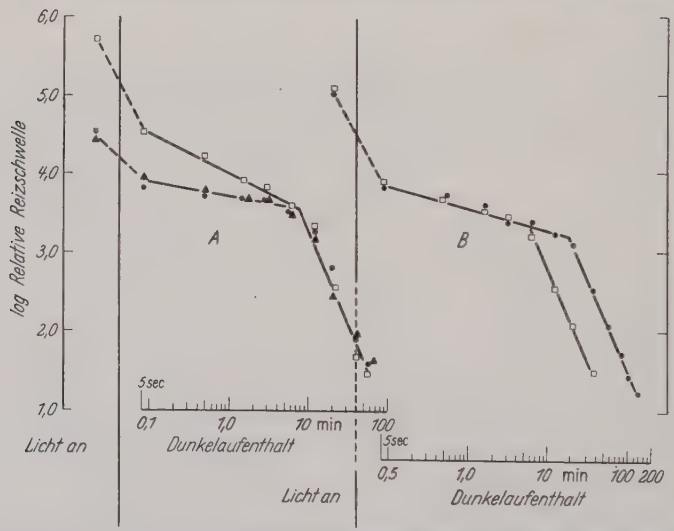


Abb. 1. Von Dodt und Jessen. Elektroretinographische Dunkeladaptationskurven vom Frosch nach Helladaptation mit 605 nm (offene Symbole) und 462 nm (gefüllte Symbole) gleicher skotopischer (*A*) und photopischer (*B*) Wirksamkeit. Schwellenkriterium ist eine b-Welle von 20 μV bei weißem Testreiz. Nullordinate ist die Reizschwelle nach 12 Std Dunkeladaptation

schiede auftraten, was durch Untersuchungen über die Sehpurpurregeneration (Lewis; Rushton) bestätigt wurde. Nach einem ersten Hinweis auf den Vorteil einer Rotbeleuchtung für den Röntgenologen (Geigel) zog bereits W. Trendelenburg eine praktische Konsequenz

durch Einführung der roten Röntgenadaptationsbrille, die gegenüber einer andersfarbigen, unter Tageslichtbedingungeng gleich hell erscheinenden Brille zu einer weit geringeren Störung des Dunkeladaptationszustandes führt.

In jüngster Zeit hat Dodt durch tierelektroretinographische Befunde erneut die Aufmerksamkeit auf die Beeinflussung der Dunkeladaptation durch vorangehende Farbadaptation gelenkt. Er bestätigte die Angaben bezüglich der Stäbchenadaptation; andererseits beobachtete er aber Abweichungen im Zapfenteil der Adaptationskurve. Insbesondere fand er bei skotopisch äquivalenten Farben die Zapfenadaptation nach Blaubelichtung im Vergleich zu Orange beschleunigt (Abb. 1).

Da gerade die erste Phase der Dunkeladaptation oft die praktisch bedeutungsvolle ist und entsprechende Beobachtungen am Menschen meines Wissens nicht vorliegen, war es von Interesse, die Übertragbarkeit der tierexperimentellen Ergebnisse von Dodt und Jessen auf den Menschen mit subjektiver Methode zu prüfen.

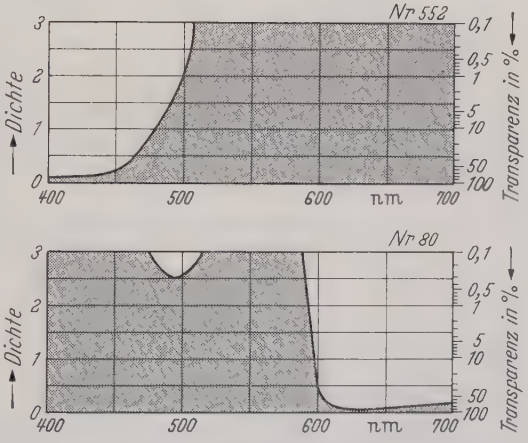


Abb. 2. Spektrale Absorption der Agfa-Filter Nr. 552 (Blau) und Nr. 80 (Orange)

Farb- und Graugläser waren in einer lichtdichten Adaptationsbrille auswechselbar. Es wurden vornehmlich folgende Gläser verwendet: Agfa Nr. 80 und 552 (Abb. 2) und Schott BG 12 und RG 1 sowie mehrere Filtersätze von NG 5, ergänzt durch NG 3. Als Filter mit einer selektiven Reflexion im Gelb-Orange von 50% wurde Transflex TS2T-65/0°/475 nm der Firma Balzers geprüft.

Da die Leuchtdichte der in unserer Klinik gebräuchlichen Adaptometer nicht ausreichte, wurde mit einer speziell dafür umgebauten Ulbricht-Kugel von 60 cm Durchmesser helladaptiert, wegen der bequemeren Handhabung aber im allgemeinen mit dem Hartinger-Adaptometer getestet, und zwar mit einem zentralen Gesichtswinkel von 10°. Die Farbtemperatur der Testlichtquelle betrug 2850° K, die der Adaptationslichtquelle 3200° K. Die ersten Sekunden gingen durch Wechsel der Blickrichtung und besonders gerade im Zentrum störende Nachbilderscheinungen für die Testung verloren.

Die vier augengesunden Versuchspersonen waren 45 min dunkeladaptiert, die Pupillen mit Mydriaticum Roche erweitert. Blau-, Grau- und Orangefilter wurden dann mit der Helladaptationskugel monocular durch Neutralgraugläser skotopisch, d. h. auf Schwellenwerte des Lichtsinns abgeglichen. Helladaptiert wurde mit einem Vielfachen dieser Schwellenenergie, entsprechend 300 oder 3000 oder

6000 asb für Grau. Im allgemeinen wurde ein Auge blau, das andere orange oder grau adaptiert und danach für beide Augen alternierend die Dunkeladaptationskurve ohne Filtergläser bestimmt.

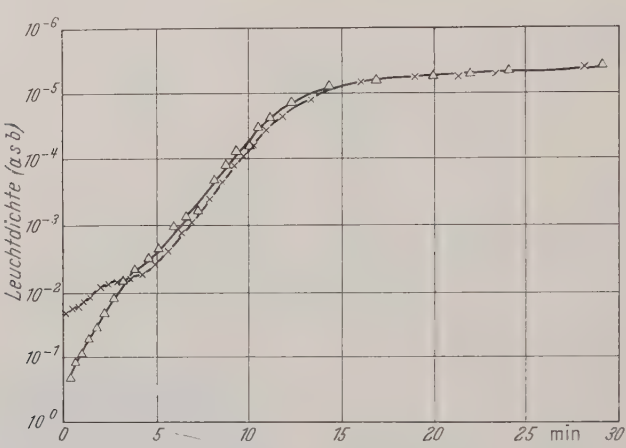


Abb. 3. Dunkeladaptationskurven einer 35jährigen männlichen Versuchsperson nach 10 min skotopisch äquivalenter Helladaptation mit Blau (Agfa 552; ×) und Orange (Agfa 80; △). Die Helladaptationsleuchtdichte war skotopisch äquivalent 3000 asb Weiß. Getestet wurde ohne Farbfilter (2850° K)

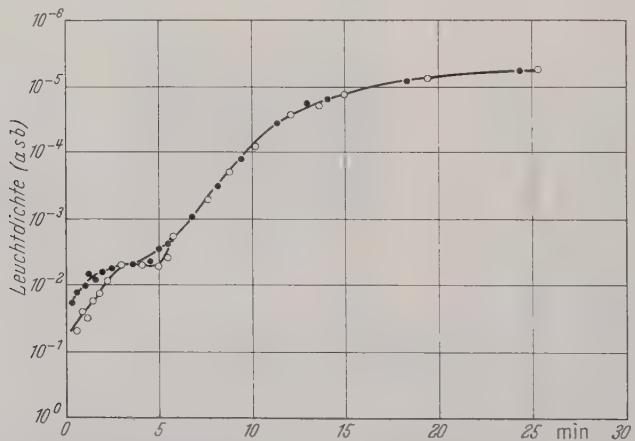


Abb. 4. Gleiche Versuchsperson und Versuchsanordnung wie bei Abb. 3. Skotopisch äquivalente Helladaptationsfarben waren Blau (Agfa 552; ●) und Weiß (3200° K; 3000 asb; ○)

Nach Helladaptation von 5 und 10 min Dauer, skotopisch äquivalent 300 asb ohne Farbfilter, waren die Dunkeladaptationskurven bei „weißem" (2850° K) Testlicht unabhängig von der vorher verwendeten Filterfarbe. Die Kurven ließen in ihrem Verlauf keinen Knick erkennen.

Bei einer 10 und 20mal höheren Helladaptationsleuchtdichte zeigten die Dunkeladaptationskurven in den ersten Minuten charakteristische Unterschiede, während sie später gemeinsam verliefen. Abb. 3 stellt ein Beispiel dar, bei dem Orangeadaptation und Blauadaptation gegenübergestellt sind. Unmittelbar nach Orangevorbelichtung ist die Empfindlichkeit des Auges stark herabgesetzt; die Kurve zeigt kaum eine Unstetigkeit. Nach Blau ist der Anfangsteil um etwa eine Zehnerpotenz empfindlicher, die Zapfenadaptation ist früher abgeschlossen, und die Kurve weist einen sehr ausgeprägten Kohlrauschschen Knick auf. Danach ist eine Kreuzung der Kurven angedeutet, und beide liegen fast aufeinander. Die Empfindlichkeitsdifferenz am Anfang der Readaptation zeigte individuelle Unterschiede zwischen 0,5 und 1,0 Zehnerpotenzen.

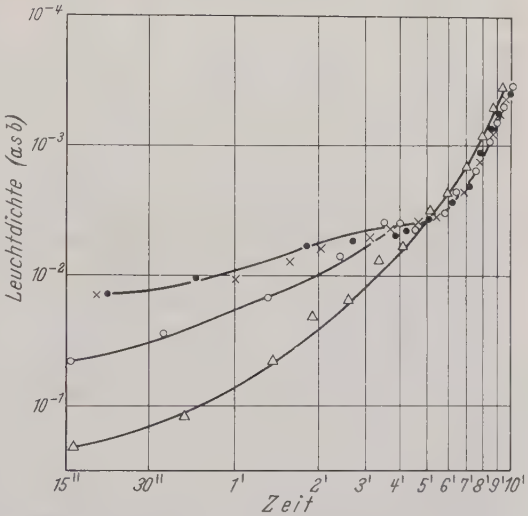


Abb. 5. Zapfenteil der Dunkeladaptationskurven einer 35jährigen weiblichen Versuchsperson nach 5 min skotopisch äquivalenter Helladaptation mit Blau (Agfa 552; ● und ×), Weiß (3200° K; 6000 asb; ○) und Orange (Agfa 80; △). Die gefüllten Kreise wurden alternierend mit den offenen Kreisen, die Kreuze alternierend mit den Dreiecken registriert. Testreize ohne Farbfilter (2850° K)

Auch nach Blauadaptation und Adaptation ohne Farbfilter treten Differenzen im Zapfenteil der Adaptationskurve auf (Abb. 4), doch sind diese weniger ausgeprägt als nach Blau und Orange und überschritten nie 0,5 Zehnerpotenzen. In der Abb. 5 ist der Versuch gemacht bei einer anderen Versuchsperson den Zapfenabschnitt der Dunkeladaptation nach skotopisch äquivalenter Helladaptation deutlicher darzustellen. Dazu wurde ein logarithmischer Zeitmaßstab gewählt, wobei durch die Art der Registrierung, besonders innerhalb der ersten Minute, allerdings die Abszissenwerte etwas ungenau bleiben müssen. Es ist gut zu erkennen, daß Weiß weniger günstig für die Zapfenadaptation ist als Blau, aber wesentlich günstiger als Orange. Bei Vergleichsuntersuchungen mit unterschiedlich starker Helladaptation ohne Farbfilter, wie sie auch mehrfach in der Literatur vorliegen (Hecht, Haig, Chase), trat nie die für skotopisch äquivalente Adaptationsfarben charakteristische isolierte Diskrepanz des Zapfenteils der Dunkeladaptation auf.

Um den Vorteil eines Blauglases bezüglich der Zapfenadaptation nicht mit dem Nachteil der völligen Absorption aller anderen Wellenlängen erkaufen zu müssen, wurde das eingangs erwähnte Glas der Firma Balzers geprüft. Mit unserer Methodik ergab sich dabei kein signifikanter Unterschied zu einem skotopisch äquivalenten Neutralgrauglas.

In weiteren Untersuchungen wurde nach Helladaptation ohne Farbfilter mit skotopisch äquivalenten Filtern getestet. Dabei ergab sich das bekannte Bild (Kohlrausch) mit hoher Zapfenempfindlichkeit für Orange. Schließlich wurden sowohl für Helladaptation als auch Testung jeweils gleichfarbige skotopisch äquivalente Gläser getragen. Die damit erhaltenen Adaptationskurven stellen eine Kombination aus den bisher beschriebenen dar. Die ersten Testpunkte wiesen jeweils keine signifikanten Differenzen auf, während dann die höhere Zapfenempfindlichkeit für Orange in den Vordergrund trat.

Das wesentliche Ergebnis der mitgeteilten Untersuchungen ist die schnelle Readaptation des Zapfenapparates nach intensiver Blaubelichtung im Vergleich zu skotopisch äquivalentem Orange und weniger ausgeprägt auch gegenüber Weiß. Die Unterschiede werden zwar dadurch begünstigt, daß die Testlichtquelle relativ viel Rot (2850° K) enthält, was aber durchaus den praktischen Gegebenheiten einer Glühlampenbeleuchtung entspricht. Orientierende Untersuchungen, bei denen die Helladaptationslichtquelle (3200° K) auch als Testlichtquelle benutzt wurde, führten im Prinzip zum gleichen Ergebnis; nur eignete sich diese Methode nicht zur vollständigen Registrierung von Adaptationskurven, da dabei Filtergläser umständlich vorgeschaltet werden mußten. Das Vorgehen mit simultaner Adaptation beider Augen und alternierender Testung unterstreicht das Bestehen von Unterschieden, da sich beide Augen dabei eher im Sinne einer Angleichung beeinflussen (Wolf, Zigler).

Die Befunde dieser subjektiven Untersuchungen am Menschen entsprechen den tierexperimentellen Dodts. Skotopisch äquivalente Farben beeinflussen die Stäbchenempfindlichkeit gleichermaßen, während bei hoher Leuchtdichte Blau die Zapfenempfindlichkeit am wenigsten herabsetzt. Während das Tragen von Rot- bzw. Orangegläsern im Hellen zur Erhaltung hoher Stäbchenempfindlichkeit führt, erhält das Tragen von Blaugläsern im Dunkeln bei vorübergehend starker Lichteinwirkung hohe Zapfenempfindlichkeit. Da dem Vorteil der Blaugläser wesentliche Nachteile gegenüberstehen — Myopiekorrektur; farbige Nachbilder; starke Abschwächung der Wirkung durch verlaufende Absorption und durch Beibehalten der Gläser nach der Helladaptation — ist eine praktische Anwendbarkeit sicher sehr eingeschränkt. Eine Blaufärbung von Blendlichtquellen wäre zu erwägen.

Zusammenfassung

Angeregt durch tierelektroretinographische Befunde Dodts wurden subjektive Dunkeladaptationskurven nach Helladaptation mit skotopisch äquivalenten Farbgläsern aufgenommen. Dabei erwiesen sich die am Frosch gewonnenen Ergebnisse als auf den Menschen übertragbar. Während der Stäbchenteil der Adaptationskurven übereinstimmte, zeigten sich im Zapfenteil nach intensiver Helladaptation Unterschiede. Die Schwellen nach Blau waren niedriger als nach Weiß und lagen wesentlich tiefer als nach Orange. Erörterung der praktischen Konsequenzen.

Literatur

Dodt, E., and K. H. Jessen: Change of threshold during light and dark adaptation following exposures to spectral lights of equal scotopic and equal photopic efficiencies. J. opt. Soc. Amer. **51**, 1269 (1961).

Gasteiger, H.: Untersuchungen über den Verlauf der Dunkeladaptation nach vorheriger Helladaptation an verschiedene spektrale Lichter. Z. Augenheilk. **66**, 425 (1928).

Geigel, R.: Ein kleiner Vorteil beim Durchleuchten mit Röntgenstrahlen. Münch. med. Wschr. **61**, 1779 (1914).

Hecht, S., C. H. Haig and A. M. Chase: The influence of light adaptation on subsequent dark adaptation of the eye. J. gen. Physiol. **20**, 831 (1937).

—, and Y. Hsia: Dark adaptation following light adaptation to red and white lights. J. opt. Soc. Amer. **35**, 261 (1945).

Hulburt, E. O.: Time of dark adaptation after stimulation by various brightness and colors. J. opt. Soc. Amer. **41**, 402 (1951).

Kohlrausch, A.: In Bethe-Bergmann, Handbuch der Physiologie, Bd. XII, S. 1579. Berlin: Springer 1931.

Lewis, D. M.: Regeneration of rhodopsin in the albino-rat. J. Physiol. (Lond.) **136**, 624 (1957).

Miles, W. R.: Red goggles for producing dark adaptation. Fed. Proc. **2**, 109 (1943).

Rowland, W. M., and L. L. Sloan: The relative merits of red and white light of low intensity for adapting the eyes to darkness. J. opt. Soc. Amer. **34**, 601 (1944).

Rushton, W. A. H.: Blue light and the regeneration of human rhodopsin in situ. J. gen. Physiol. **41**, 419 (1958).

Trendelenburg, W.: Die Adaptationsbrille, ein Hilfsmittel für Röntgendurchleuchtungen. Fortschr. Röntgenstr. **25**, 30 (1916).

Wolf, E., and M. J. Zigler: Course of dark adaptation under various conditions of preexposure and testing. J. opt. Soc. Amer. **45**, 696 (1955).

Dr. A. Pilz, Augenklinik der Charité, Berlin N 4, Ziegelstr. 5—9

v. Graefes Archiv für Ophthalmologie 164, 174—196 (1961)

Aus der Univ.-Augenklinik Hamburg-Eppendorf (Direktor: Prof. Dr. H. Sautter)

Experimentelle Untersuchungen zur metastatischen Ophthalmie mit der Candida albicans* **

Von

D. H. Hoffmann und Th. Waubke

Mit 13 Textabbildungen

Einleitung

Die hämatogene Verschleppung von Mikroorganismen ins Augeninnere hat seit der Entdeckung der retinalen und chorioidealen Capillarembolie bei Fällen von metastatischer Panophthalmie durch Virchow im Jahre 1856 immer wieder großes Interesse gefunden. Roth lieferte 1872 die erste klinische Beschreibung des Krankheitsbildes der metastatischen Ophthalmie. Während er noch eine toxisch bedingte Retinitis septica streng von der embolischen Ophthalmie trennte, konnte diese Auffassung später durch Litten und Kahler soweit widerlegt werden, daß sie in dieser Form nicht mehr haltbar war.

Die Arbeiten von Axenfeld, Goh, Herrnheiser, Stock, Wagenmann u.a. führten in der Folgezeit zur Bildung der grundlegenden pathogenetischen Vorstellungen, welche noch heute für die metastatische Ophthalmie Gültigkeit besitzen.

Diese Autoren unternahmen auch die ersten tierexperimentellen Untersuchungen mit *Bakterien* unter Anwendung wissenschaftlicher Methoden. Die Literatur über frühere Beiträge, welche hauptsächlich orientierenden Charakter hatten, wurde von Axenfeld (1894) lückenlos zusammengestellt.

1903 bewiesen Selenkowsky und Woizechowsky erstmalig, daß Keime über die Gefäße des hinteren Augenabschnitts in den Glaskörper gelangen können. Stock erzeugte 1903 durch intravenöse Injektion von Tuberkelbakterien beim Kaninchen Iritiden, Cyclitiden und Aderhautherde. Histologisch fanden sich die Keime in allen Teilen der Uvea, jedoch nicht in der Retina. In die Zeit der Jahrhundertwende fallen auch die Experimente von Sternberg und Stock mit Hefepilzen, welche weiter unten im einzelnen besprochen werden sollen. 1923 versuchte Seguini mit verschiedenen Erregern metastatische Ophthalmien zu erzeugen und ihre Lokalisation zu studieren. Bei 6 mit Milzbrandkeimen infizierten Hunden trat der Tod ein, ohne daß eine Augenmetastase zu beobachten oder histologisch nachzuweisen gewesen wäre. Von 7 Kaninchen, welche mit meningokokkenhaltigem Liquor eines an metastatischer Ophthalmie erkrankten Patienten intravenös geimpft

* Vorläufige Mitteilungen unserer Ergebnisse erfolgten anläßlich der 62. Zus. der D. O. G. in Heidelberg 1959 und der 63. Zus. in Berlin 1960.

** Herrn Dr. H. Rieth, Mykologisches Labor der Univ.-Hautklinik Hamburg-Eppendorf, danken wir für seine stets entgegenkommende Hilfe und wertvollen Ratschläge.

worden waren, zeigte ein Tier am dritten Tag Netzhautherde beiderseits und starb bald darauf an einer Pleuropneumonie. Histologisch bestand zwischen Netzhaut und Aderhaut an mehreren Stellen ein eitriges Exsudat bei dichter Infiltration der Netzhaut und mäßiger leukocytärer Reaktion in der Aderhaut. Ein histologischer oder kultureller Erregernachweis wurde nicht erbracht.

Finoff injizierte in Fortsetzung der Experimente von Stock einer größeren Anzahl Kaninchen Tuberkelbakterien in die A. carotis communis. Die Tiere gingen jedoch meist zugrunde, bevor der Prozeß am Auge seine höchste Entfaltung erreicht hatte. Neben Knötcheniritiden kamen Aderhautherde zur Beobachtung, welche histologisch säurefeste Stäbchen enthielten. Ähnliche Versuche, die allerdings weniger der Erforschung der metastatischen Ophthalmie als dem Studium der spezifischen Uvealerkrankungen dienen sollten, führte später Courtis durch, ebenso Wegner mit modifizierter Injektionstechnik in die vordere Ciliarvene. Antoniben experimentierte mit Proteus- und Subtilisbakterien sowie mit Staphylokokken, indem er beim Kaninchen nach Schädigung des einen Auges durch Trauma oder chemische Stoffe die Erreger intravenös applizierte. Die mit Staphylokokken infizierten Versuchstiere starben bald nach Injektion der Bakterienaufschwemmung, nur bei einem Tier, welches 20 Std überlebte, konnten die Erreger im Auge nachgewiesen werden. Erfolgreicher verliefen die Untersuchungen mit B. proteus und B. subtilis. Histologisch zeigte sich immer nur das geschädigte Auge befallen, während das Kontrollauge frei blieb.

Zanettin wies bei Injektion von kleinsten Staphylokokkenmengen nach 3 bis 5 Tagen die Erreger bakteriologisch in den Augengeweben nach. Dabei fand er mit vorher auf Ochsenuvea gezüchteten Keimen in 66% ein Wachstum in der Uvea, mit solchen aus gewöhnlicher Bouillon nur in 23%.

Kojima verwendete Pneumokokken und studierte in histologischen Schnittserien nach Injektion in die Carotis die Absiedelung der Keime im Auge. Am unberührten Auge, nach vorheriger Durchschneidung der hinteren langen oder der hinteren kurzen Ciliararterien erhielt er jeweils andere Lokalisationen.

Auch wir begannen unsere Untersuchungen mit intravenösen Injektionen von Streptokokken-, Staphylokokken- und Pneumokokkensuspensionen, konnten aber nur in wenigen Fällen Augenerscheinungen erzielen. So fand sich bei 20 mit Staphylococcus „Aronson" infizierten Kaninchen klinisch nur zweimal eine Augenbeteiligung, histologisch nur dreimal. Auch starben die meisten Tiere binnen kurzer Zeit, so daß eine befriedigende Beobachtung des Verlaufs gar nicht möglich war. Ebenso machte der histologische oder kulturelle Erregernachweis große Schwierigkeiten. Angeregt durch die Untersuchungen Rieths zur Pathogenität von Hefepilzen gingen wir auf größere Erreger über. Von den informatorisch getesteten Torulopsis-, Cryptococcus-, Saccharomyces- und Candidaarten erwies sich allein Candida albicans für unsere Zwecke als geeignet.

Ein kurzes Eingehen auf die *Pilzerkrankungen des Auges* erscheint an dieser Stelle gerechtfertigt. Sie sind wesentlich häufiger, als allgemein angenommen wird. Schon lange bekannt ist die *Aspergillose der Hornhaut.* Seit ihrer Erstbeschreibung durch Leber 1879 kamen laufend weitere Beobachtungen (u.a. Fuchs, Uhthoff und Axenfeld, später Fazakas, Orlov, Hervouet und Lenoir). Heute verfügt die Literatur über 90 Fälle, wie Saubermann und Scholer in ihrer kürzlich erschienenen Monographie darlegen konnten.

Auch der Pilzbefall der *Tränenröhrchen*, hauptsächlich durch die Strahlenpilze Actinomyces und Nocardia, ist nicht selten. Diese Vertreter der Ordnung Actinomycetales stehen allerdings den Mycobakterien schon sehr nahe, werden aber meist in die mykologische Systematik eingeordnet. Oft verwendet man auch noch heute für sie die veralteten Bezeichnungen Streptothrix und Leptothrix, wie überhaupt eine fast unübersehbare Zahl von Synonymen das mykologische Literaturstudium sehr erschwert. Eine intraoculare Aktinomykose sah Fuchs nach Kataraktextraktion, aktinomykotische Hornhautgeschwüre beobachteten u.a. Löwenstein, Davids, Fazakas und in neuerer Zeit Smith, Schardt et al. sowie Gerhardinger.

Der Befall der *Lider* durch Dermatophyten, aber auch durch andere Fungi, bedarf keiner besonderen Erwähnung.

Pilzinfektionen des Augeninnern nach perforierenden Verletzungen oder intraocularen Eingriffen werden immer wieder beschrieben (Leber, Budek, v. Herrenschwand, Kampherstein, Köllner, Roemer, Verhoeff, Süchting und später Fine und Zimmerman sowie Greetham und Makley).

Zusammenfassende Darstellungen der Pilzerkrankungen des Auges finden sich bei Cavara und Fazakas. Letzterem verdanken wir auch eine große Anzahl einzelner Beiträge zur ophthalmologischen Pilzliteratur. Die neuesten Zusammenstellungen stammen von Reboucas (1953) und Birge (1952). In den letzten Jahren läßt sich auch in der Augenheilkunde eine Zunahme der Erkrankungen durch *Hefepilze* verzeichnen. Allein über teilweise schwerstens verlaufende Keratomykosen durch Candidaarten, speziell Candida albicans, sind seit 1953 etwa 15 Publikationen erschienen (Corcelle, Ley, Mendelblatt, Minoda, Mondelski, Roberts, Pannarale, Urrets-Zavalia u.a.), während sie früher eine Seltenheit darstellten (Serra 1929, Sykes 1946). Tierexperimentelle Untersuchungen von Ley, Mitsui und Hanabusa sowie Montana weisen auf einen Zusammenhang mit der zunehmenden Antibiotica- und Steroidbehandlung. Hierzu sind auch die Beobachtungen von Fine und Waring sowie Wolter u. Mitarb. interessant, welche einen bisher nicht bekannten Verschluß des Tränennasenganges durch Candida albicans-Konkremente beschreiben.

Über *metastatische Ophthalmien durch Pilze* lassen sich 25 Angaben ermitteln. L. Müller sah 1903 mehrere Fundusherde nach miliarer, von der Lunge ausgehender Aktinomykose. Ein sicherer Pilznachweis gelang ihm nicht. Dimmer fand bei seinem 1913 beschriebenen Fall Pilzfäden in der Chorioidea, im Glaskörper und in der Sklera, welche er für Aspergillus fumigatus hielt. Albrich lieferte 1923 und 1926 zwei weitere Beiträge: Im Gefolge einer allgemeinen Sepsis war es jeweils zu einer metastatischen Ophthalmie gekommen; histologisch „erinnerte" der 1. Fall an „Favus", im 2. fanden sich Fadenpilze. Stock beobachtete 1926 bei einem jungen Mann mit durch Aspergillus fumigatus infizierten Bronchiektasen eine Panophthalmie, welcher eine Durchsetzung des Glaskörpers mit Schimmelpilzen zugrunde lag. In dasselbe Jahr fällt auch die Mitteilung Verhoeffs. Er konnte Pilzzellen nachweisen, welche er als Leptothrix ansprach. Bei der 1928 erfolgten Publikation Archangelskijs handelte es sich wahrscheinlich wieder um Aspergillus fumigatus. Klinisch war ein intraocularer Cysticercus angenommen worden. Aspergillus fumigatus fand sich auch bei den Fällen von Rohner und Huber sowie Lorenz (1933). Die prognostisch äußerst ungünstige nordamerikanische Blastomykose (Morbus Gilchrist), welche durch den hefeähnlichen Blastomyces dermatitidis hervorgerufen wird, lag bei der Beobachtung von Schwartz (1931) vor. Hierbei war, im Gegensatz zu allen oben genannten Fällen, der kulturelle Nachweis der Erreger nach Punktion der Vorderkammer möglich. Pilzmetastasen der Uvea durch den gleichen Keim konnten Cassady (1946) sowie

Sinskey und Anderson (1955) demonstrieren. Die Fälle von Kreibig (1940) und Heinsius (1950) sind wahrscheinlich, die Beobachtung von Weiss, Perry und Schevky (1948) sicher dem Erreger der europäischen Blastomykose (Kryptokokkose, Morbus Busse-Buschke), dem Hefepilz Cryptococcus neoformans, zuzuordnen. Cogan (1949) und Harley (1959) fanden wieder Aspergillusarten, Nover (1950) „Pilzkolonien aus der Klasse der Phyko- oder Eumyceten".

Die erste metastatische Ophthalmie durch Candida albicans mit histologischem Nachweis konnte van Buren 1958 beschreiben, zu der es bei einer 53jährigen Frau im Zuge einer Allgemeininfektion mit Candida albicans gekommen war. Intra vitam war der Pilz aus Blut und Knochenmark gezüchtet worden.

1960 hatte Wolter Gelegenheit, einen ähnlichen Fall zu beobachten. Bei einer wegen unklarer abdomineller Beschwerden lange Zeit mit Antibiotica und Steroiden allgemein behandelten Frau trat eine schwere einseitige Endophthalmitis auf. Mit PAS-Färbung ließen sich um einen Absceß im vorderen Glaskörper herum Pilze nachweisen, welche morphologisch am ehesten als Candida albicans anzusprechen waren. Die Absceßwand enthielt haufenweise Riesen- und epitheloide Zellen. Eine kulturelle Untersuchung war nicht möglich.

Als wahrscheinliche metastatische Ophthalmien sind die Mitteilungen von Reid et al. (1942) sowie von Wilder und Bickerton (1955) anzusehen. Im ersten Falle handelt es sich um die oculäre Manifestation von Histoplasma capsulatum mit weißen Fundusherden. Wilder und Bickerton fanden am Material des Armed Forces Institute of Pathology in Washington zweimal Cryptococcus- und je einmal Blastomyces- und Mucorarten als Erreger einer offensichtlich endogenen intraoculären Entzündung.

Tierversuche am Auge mit Pilzen wurden von Zeit zu Zeit immer wieder durchgeführt.

Nobbe stellte neben der genaueren histologischen Prüfung des von Leber publizierten Falles tierexperimentelle Untersuchungen mit Aspergillus fumigatus an, wobei er nach intravitrealer Injektion schwere Entzündungen im Glaskörper beobachtete. Ähnliche Versuche unternahm Stoewer 1898 mit „Rosahefen". Leber konnte 1891 an der Kaninchencornea mit Aspergillus fumigatus mykotische Geschwüre hervorrufen. In neuester Zeit haben Saubermann und Scholer dieses Thema wieder aufgegriffen und durch Testung der mykostatischen Wirkung von Nystatin erweitert. Um die Behauptung Sanfelices und Leopolds, Hefen erzeugten bösartige Geschwülste, zu widerlegen, machte Sternberg viele Tierversuche mit verschiedenen Hefen. Nach intravenöser Injektion von „Saccharomyces hominis Busse" (Cryptococcus neoformans) bei einem Hund sah er eine milchigweiße Trübung des Glaskörpers und der Cornea. Die Glaskörpertrübung erwies sich histologisch als hefezellen- und leukocytenhaltiges, fibrinöses Exsudat. Die Netzhaut war durch ein ähnliches Exsudat von der Chorioidea abgehoben.

Cohn sah 1902 nach intravenöser Injektion einer Hefe, welche von Klein in London aus Milch isoliert worden war (genauere Hinweise fehlen), eine knötchenförmige Iritis und endogene Conjunctivitis am Kaninchen. Stock, welcher mit Hefe-Klein und Hefe-Busse arbeitete,

erzielte 1908 durch intravenöse Injektion beim Kaninchen neben grauen Knötchen an der Iris hellgraue Herde am Augenhintergrund, welche von menschlichen chorioiditischen Herden nicht zu unterscheiden waren.

Jadassohn und Rehsteiner konnten 1930 als erste die Möglichkeit des Wachstums von Dermatomyceten in der lebenden Linse nachweisen. Die Pilze vermehrten sich hauptsächlich in den tiefen Rindenschichten und nicht in den oberflächlichen, noch kernhaltigen Bereichen, was seinerzeit aus einem ganz neuen Blickwinkel heraus die Auffassung Vogts von der spezifischen Pathologie der einzelnen Linsenschichten stützte. Tamponi und Mecca reproduzierten diese Versuche einige Jahre später.

Rizzo erzeugte 1931 an Meerschweinchen und Kaninchen mit „Actinomyces asteroides" durch subconjunctivale, intracorneale und intravitreale Impfung sowie durch Injektion in die Vorderkammer Absiedlungen des Pilzes in allen Teilen des Auges. Bei Einbringung in die Carotis kam es zu kleinsten Abscessen in der Aderhaut und der Sklera, aus welchen Rückzüchtung und histologischer Nachweis möglich waren. Mit Nocardia asteroides experimentierten in neuester Zeit McCarthy, Kennedy und Hazard. Auch sie beschrieben nach Einbringung des Keimes unter die Conjunctiva und in die Vorderkammer des Kaninchens seine Ausbreitung im ganzen Auge. Pergola verwendete Saccharomyceten. Am Kaninchen führten Injektionen in die Carotis zur Panophthalmie. Histologisch waren Retina, Ciliarkörper und das interstitielle Sehnervengewebe infiltriert. 1949 impfte Day Albinoratten mit Histoplasma capsulatum in die Vorderkammer und intravenös. Er sah schwere Iridocyclitiden. Zu Absiedlungen am hinteren Bulbusabschnitt kam es nicht. Gaipa beobachtete nach Injektion von Blastomyces brasiliensis in die Kaninchenvorderkammer noduläre Iritiden und tiefliegende Keratitiden.

Mit *Candida albicans* machten erstmalig Grawitz und Plaut Tierversuche am Kaninchenauge. Durch Injektion von entsprechenden Pilzaufschwemmungen in den Glaskörper erzeugten sie dort stärkere Trübungen und sahen kleine weiße Gebilde, die zum Teil der Netzhaut auflagen. Fischer und Brebeck (1894) verimpften den Pilz auf die Kaninchencornea und erhielten Keratitiden. Die in neuerer Zeit zum Studium des Einflusses von Cortison und Antibiotica auf Candida albicans-Infektionen der Hornhaut durchgeführten Untersuchungen (Ley u.a.) fanden bereits oben Erwähnung.

Generalisierte Mykosen durch Candida albicans beim Kaninchen sind seit Stoos sowie Charrin und Ostrowsky bekannt. In den letzten Jahren hat Rieth wieder größere Versuchsreihen unternommen. Von ihm stammt auch der erste Hinweis in der Literatur, daß sich im Verlauf der Infektion Mikroabscesse in der Retina beobachten lassen.

Mykologische Methodik

Vorbemerkung. Stellung der Candida albicans (C. a.) im botanischen System sowie ihre morphologischen und biologischen Eigenschaften

Die C. a. zählt zu den asporogenen Hefen. Im künstlichen System der Fungi imperfecti gehört sie zur Ordnung der Hyphomycetales (Moniliales), zur Familie der Cryptococcaceae und zur Gattung Candida Berkhout. Wenn auch andere Candidaarten das klinische Bild des Soors hervorrufen können, so gilt doch die C. a. als der Soorerreger schlechthin.

Die Kolonien (Abb. 1, 2) bestehen aus rundlichen bis ovalen *Blastosporen* und dem *Pseudomycel*, welches durch Aneinanderlagerung von langgestreckten Blastosporen entsteht. Meist terminal entwickeln sich die charakteristischen *Chlamydosporen*, das sind dickwandige, doppelt konturierte, runde Gebilde mit viel Reservesubstanz (Lipoide). Pseudomycel und Chlamydosporen finden sich auf nährstoffarmen Medien (z. B. auf Reisagar, s. unten), bei erniedrigter O_2-Spannung oder bei tieferen Temperaturen und sind für die Diagnostik besonders wichtig. Die Größe der Blastosporen ist nicht konstant und in gewissen Grenzen vom Nährboden abhängig, sie beträgt durchschnittlich 2—4 μ.

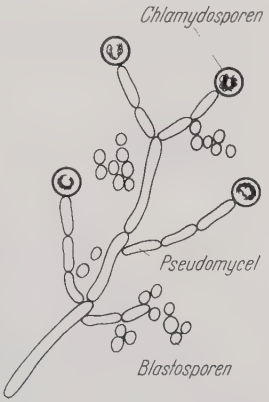


Abb. 1. Morphologie der Candida albicans

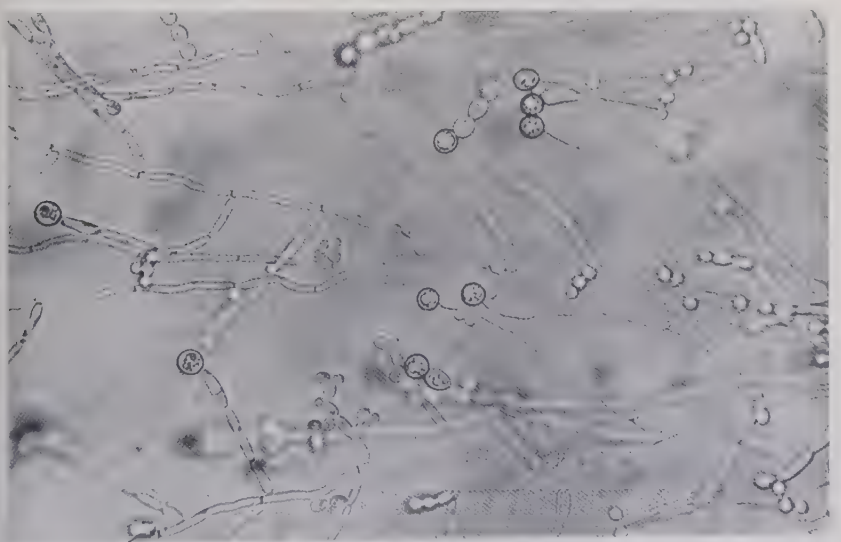


Abb. 2. Candida-albicans-Kultur auf Reis-Agar mit Blastosporen, Pseudomycel und Chlamydosporen

In Analogie zu den S- und R-Formen bei Bakterien hat man diese Unterscheidung auch für die C. a. getroffen: Die weichen S-Kolonien bestehen vorwiegend aus Sproßzellen, die membranartigen R-Kolonien mehr aus Pseudomycel[1].

[1] Unsere Stämme wuchsen alle in der S-Form.

Zur diagnostischen Differenzierung der Hefepilze macht man sich ihre biologischen Eigenschaften zunutze. Sie bestehen in der Vergärung und Assimilation bestimmter Substanzen. Entsprechende Stoffwechselprüfungen ermöglichen auch bei der Candida die Trennung der Arten.

C. a. *fermentiert* Dextrose (Glucose) und Maltose, in schwachem Maße und nicht regelmäßig auch Galaktose; Saccharose und Lactose, werden nicht vergoren. Sie *assimiliert* Dextrose, Galaktose, Saccharose und Maltose, hingegen keine Lactose. Außerdem wird Pepton (organischer Stickstoff), jedoch kein Nitrat (anorganischer Stickstoff) assimiliert.

Züchtung der Erreger

Für die laufende Züchtung der Versuchsstämme kam der von Kimmig angegebene Hamburger Testagar in folgender Zusammensetzung zur Verwendung:

Glucose	10,0
Pepton Merck	5,0
Glycerin	5,0
NaCl	5,0
Standard-II-Nährbouillon-Merck	5,0
Agar-Agar	30,0
Aqua dest. ad	1000,0

Die Weiterverimpfung auf neue Nährbodenplatten erfolgte alle 6—8 Tage, außerdem 2 Tage vor jedem Versuch.

Die verwendeten C. a.-Kulturen waren im mykologischen Laboratorium der Univ.-Hautklinik Hamburg isoliert worden. Der aus Sputum gewonnene Stamm für die Hauptversuche (Stamm-Nr. 20154) war zu Beginn der Versuche etwa 2 Monate alt. Bei den für die Nebenversuche benutzten Stämmen lagen Isolierung und erstmalige Züchtung teilweise bis 18 Monate zurück.

Das *morphologische Verhalten* der Kulturen mußte etwa alle 3 Wochen nach der Methode von Taschdjian und Rieth, Ito und Schirren auf Reisagar[1] geprüft werden, um Verunreinigungen der Stämme auszuschließen. Nur bei einer Mangelernährung bilden sich die für die sichere Identifizierung von C. a. eine entscheidende Rolle spielenden Chlamydosporen. Auch die Pseudomycelbildung läßt sich auf Reisagar gut beobachten, da es auf Grund verzögerter Zellteilung zur Ausbildung langgestreckter Zellen kommt. Die unter halbanaerogenen Bedingungen unter einem Deckglas wachsenden Kolonien wurden am 3. bis 5. Tag nach der Beimpfung mikroskopisch beurteilt. Abb. 2 zeigt das charakteristische Bild einer C. a.-Kultur auf Reisagar. Schließlich waren, wenn auch in größeren Abständen, Stoffwechseluntersuchungen zur Kontrolle erforderlich. Zur Prüfung der *Fermentation* kamen jeweils 4,0 g der verschiedenen Zucker (Dextrose, Galaktose, Saccharose, Maltose, Lactose) mit 200 cm³ Peptonwasser (20 g Pepton auf 1000 cm³ Aqua dest.) in Reagensgläser. Nach Hinzufügen von Bromthymol-Blau in alkoholischer Lösung und Einstellung eines p_H von 7,0 (grün) wurden Gärröhrchen zugegeben, die Lösungen an drei aufeinanderfolgenden Tagen im Dampftopf sterilisiert und dann mit der Pilzkultur beimpft. Drei bis zehn Tage danach erfolgte die Beurteilung der bei Brutschranktemperaturen aufbewahrten Röhrchen. (Durch CO_2-Bildung bei der Vergärung werden die Röhrchen mehr oder weniger mit Gas gefüllt oder hochgetrieben, die Reaktion der Lösung sauer.)

[1] Brühreis 20,0; Agar-Agar 30,0; Leitungswasser ad 1000,0. (Dem Filtrat von 20 g Brühreis und 200 cm³ Wasser werden Agar-Agar und restl. Wasser zugegeben.)

Zur Prüfung der *Zuckerassimilation* bedienten wir uns des nachfolgenden Nährbodens:

Ammoniumsulfat . .	5,0
Kaliumphosphat . .	1,0
Magnesiumsulfat . .	0,5
Faul-Agar	30,0
Leitungswasser . .	1000,0

Dem durch Erwärmung auf etwa 40° verflüssigten Agar wurde die in etwas Ringer-Lösung suspendierte C. a.-Kultur beigegeben. Nach Erkalten kamen sterile, mit je einem der genannten Zucker (20%ige Lösung) getränkte Filterplättchen auf die Nährbodenplatte. Nach 2—3 Tagen war die Beurteilung möglich.

Auch für die Prüfung der *Stickstoffassimilation* war ein besonderer Nährboden erforderlich:

Kaliumphosphat . .	1,0
Magnesiumsulfat . .	0,5
Dextrose	20,0
Faul-Agar	30,0
Leitungswasser . .	1000,0

Bei sonst gleichem Verfahren wie bei der Zuckerassimilation wurden die angefeuchteten Filterpapierplättchen in Kaliumnitrat bzw. Pepton eingetaucht und dann auf die Platten gebracht, deren Beurteilung nach 3 Tagen erfolgte (Höfe um die assimilierte Substanz, wie bei der Zuckerassimilation).

Wägung der Kulturmengen, Wahl der Suspendierungsflüssigkeit und Zählung der Blastosporen

Um später vergleichbare Ergebnisse bei den Tierversuchen zu erzielen, mußte die zu applizierende Menge pathogener Partikel standardisiert werden. Dazu wurden 10 mg der auf Testagar gezüchteten Kultur unter sterilen Kautelen auf der Analysenwaage abgewogen und in 10 cm³ steriler Ringer-Lösung aufgeschwemmt. Durch Zugabe einiger steriler Glasperlen und vorsichtiges längeres Schütteln des Reagensglases konnte die Tendenz der Blastosporen zur Zusammenballung behoben und ihre gleichmäßige Verteilung in der Lösung erreicht werden.

Tabelle. *Zahl der Blastosporen pro Kubikzentimeter*

(Durchschnittswerte aus je 10 Zählungen mit der Thoma-Kammer).

	1. Tag	2. Tag
1. Versuch	$39{,}3 \cdot 10^6$	$36{,}5 \cdot 10^6$
2. Versuch	$25{,}0 \cdot 10^6$	$36{,}0 \cdot 10^6$
3. Versuch	$33{,}5 \cdot 10^6$	$33{,}4 \cdot 10^6$
4. Versuch	$35{,}4 \cdot 10^6$	$35{,}8 \cdot 10^6$
5. Versuch	$39{,}8 \cdot 10^6$	$37{,}8 \cdot 10^6$
6. Versuch	$38{,}1 \cdot 10^6$	$37{,}6 \cdot 10^6$
7. Versuch	$37{,}5 \cdot 10^6$	$36{,}0 \cdot 10^6$

Zur Klärung der Frage ob in einer gleichen Kulturmenge auch jeweils gleiche Blastosporenzahlen zu erwarten seien, zählten wir die Hefezellen in einer Thoma-Kammer aus nach einer weiteren Verdünnung der obigen Aufschwemmung auf 1:100 in der Erythrocytenpipette. Jede Suspension (insgesamt 7 Versuche) wurde zehnmal ausgezählt. Die Durchschnittswerte der Zählungen am 1. und 2. Versuchstage gibt die Tabelle wieder. Die Werte entsprechen der Anzahl der Blastosporen pro cm³. 1 cm³ enthielt somit durchschnittlich $36 \cdot 10^6$ Blastosporen. Die Zählungen zeigten, daß die in praxi einfachere Abwägung eine ausreichende Genauigkeit gewährleistete. Es wurde deswegen später auf eine Auszählung verzichtet und die zu injizierende Kulturmenge nur noch abgewogen. Schließlich ergaben weitere Zählungen, daß sich die Zahl der Blastosporen in Ringer-Lösung über

mehrere Tage nicht änderte. Ebenso war im Vergleich mit sofort weiter verimpften Kulturen das Wachstum auf Test-Agar noch nach Tagen unverändert. Da beides jedoch eine möglicherweise durch den Verbleib in der Lösung aufgetretene Virulenzänderung nicht ausschloß, ließen wir die Aufschwemmung vor jeder Verimpfung nicht über 2—3 Std alt werden.

Zur leichteren Injektion und genaueren Dosierung wurde 1 cm^3 der gut durchmischten 1. Suspension (1 cm^3 = 1 mg Kultur) mit 9 cm^3 Ringer-Lösung verdünnt, so daß 1 cm^3 jetzt 0,1 mg C. a.-Kultur enthielt.

Technik der Tierversuche

Zur Verwendung kamen 60, vorwiegend dunkelfellige, über 1 Jahr alte und gesunde Kaninchen von 1,9—3,4 kg Körpergewicht, darunter so oft wie möglich Geschwistertiere.

Die sterile intravenöse Injektion erfolgte in üblicher Weise in die Ohrvene. Für die Funduskontrollen wurde im allgemeinen die Spiegelung im umgekehrten Bild bevorzugt und der Augenhintergrundsbefund jeden Tag durch eine Skizze festgehalten, um später Vergleiche über die Entwicklung der Herde bei den verschiedenen Versuchen zu ermöglichen.

Bei orientierenden Versuchen an der weißen und grauen Maus injizierten wir die Pilzaufschwemmungen in die Schwanzvene, da uns dieses Vorgehen zur Erzeugung einer generalisierten Infektion gegenüber der einfacheren intraperitonealen Injektion von größerer Sicherheit zu sein schien. Zur Fixierung der Maus diente der von Hopff angegebene Apparat. Wie beim Kaninchen wurde im umgekehrten Bild gespiegelt, nachdem die Pupille durch Atropin, dessen Installation mit Hilfe einer eigens dafür präparierten Tropfpipette erfolgte, maximal erweitert worden war, so daß der Augenhintergrund etwa 10-Pfennigstückgroß erschien.

Ergebnisse

I. Qualitative Kaninchenversuche

a) Ophthalmoskopisches Bild der Herdentwicklung. Durch intravenöse Injektion von C. a.-Aufschwemmungen ließen sich, wenn die Dosis von 0,10 mg/kg Körpergewicht nicht unterschritten wurde und der Erregerstamm nicht zu alt war (s. unten), *regelmäßig* Fundusherde erzeugen. Zunächst traten am 1.—3. (meist am 2.) Tag post infectionem (p. i.) punktförmige, graue, unscharf begrenzte, meist in der Umgebung der Markflügel und der Papille gelegene Herde auf (Abb. 3). Sie wurden nach weiteren 12—24 Std unter Hinzukommen neuer, oft weiter in der Peripherie gelegener Ansiedlungen größer und porzellanweiß und zeigten ein kugeliges, manchmal zipflig-prominentes Aussehen. Sie konfluierten teilweise (Abb. 7), mitunter zu perlschnurartigen Ketten, blieben aber meist isoliert.

Der einzelne Herd erlangte am 3. und 4., spätestens am 5. Tag seine größte Ausdehnung, um sich von diesem Zeitpunkt an langsam wieder zurückzubilden. Die vorher leicht prominenten Herde fielen in das Niveau der Netzhaut zurück, wurden kleiner und verfärbten sich bräun-

lich (Abb. 4). Je nach ihrer ursprünglichen Größe heilten sie unter Zurücklassung einer hellen oder graubraunen, an den Rändern pigmentierten Narbe aus, die feinsten gelegentlich ohne später sichtbare Veränderungen.

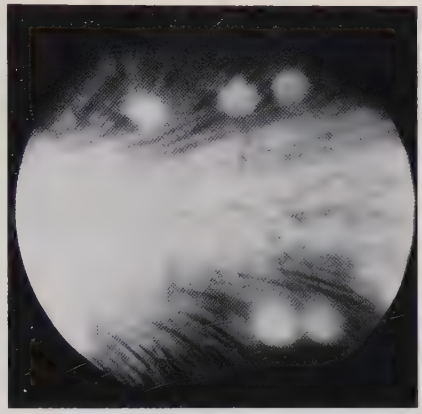


Abb. 3. Herde in der Umgebung eines Markflügels

Zu einem Durchbruch in den Glaskörper kam es bei mittlerer Dosierung (s. unten) nur in einigen Fällen, fast regelmäßig jedoch bei massiven Dosen. Abb. 5 zeigt einen Fundusherd, von welchem aus es zur Bildung einer größeren Pilzkolonie im Glaskörper kam, die schon äußerlich sichtbar war (Abb. 6). Am vorderen Bulbusabschnitt sahen wir selbst bei letalem Ausgang keine Veränderungen.

Mit einigen älteren Stämmen jedoch, welche lange Zeit auf Test-Agar weiterverimpft worden waren (der älteste Stamm dieser Art war 18 Monate alt), gelang es uns trotz wiederholter Versuche und hoher Dosierung nicht, Fundusherde hervorzurufen. Die Tiere überlebten nach leichtem Fieber eine bei virulenten Stämmen der doppelten tödlichen Dosis entsprechende Erregermenge. Auf diese, später weiter verwendeten Tiere wird im Rahmen der Immunitätsversuche bei anderer Gelegenheit noch eingegangen werden.

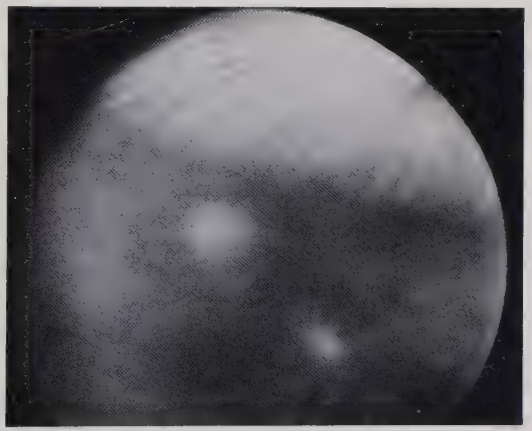


Abb. 4. In Vernarbung befindliche Fundusherde

b) Rückzüchtung der Erreger aus Aderhaut und Netzhaut. Alle Versuche, C. a. aus der Aderhaut und der Netzhaut zurückzuzüchten, verliefen positiv.

Drei Kaninchen erhielten je 0,15 mg C. a./kg Körpergewicht intravenös. Der Augenhintergrund der Tiere war von großen Herden übersät. Abb. 7 zeigt das Fundusbild kurz vor der Enucleation, Abb. 8 den entsprechenden Bulbus mit zahlreichen typischen C. a.-Herden.

Die Augen der zum Zeitpunkt der optimalen Herdentwicklung (4. und 5. Tag) getöteten Tiere wurden enucleiert und präpariert. Auf je eine Nährbodenplatte kamen Ausstriche von Retina, Chorioidea und Iris. Die Rückzüchtung aus der Chorioidea und der Retina gelang, wie sich bei morphologischer und biologischer Kontrolle zeigte, ohne Verunreinigung (Abb. 9).

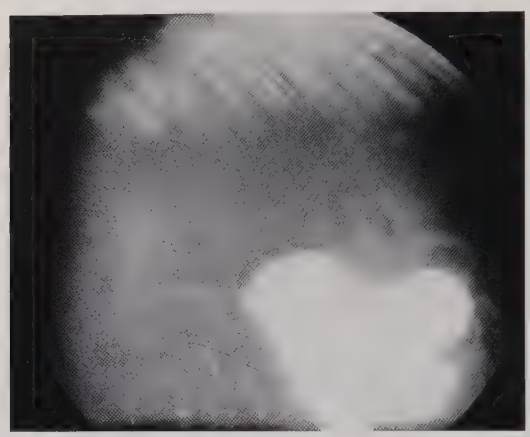


Abb. 5. Vom Fundus ausgehender, bis in den Glaskörper reichender Herd

Die von der Iris angelegte Kultur blieb steril. Dieselben Ergebnisse erhielten wir bei später wiederholt angestellten Rückzüchtungsversuchen.

c) Histologischer Nachweis. Durch Spezialfärbungen (Alcianblau-Färbung und Perjodsäure-Schiff-Färbung) ließ sich in allen Fällen der

Abb. 6. Schon äußerlich sichtbarer Glaskörperabsceß (dasselbe Auge wie Abb. 5)

histologische Nachweis der Erreger in der Netzhaut und Aderhaut erbringen (Abb. 10). Das Studium ihres Einbruchsweges und ihrer Wan-

derung im Gewebe wird Gegenstand einer weiteren Arbeit sein, so daß wir an dieser Stelle auf Einzelheiten verzichten möchten.

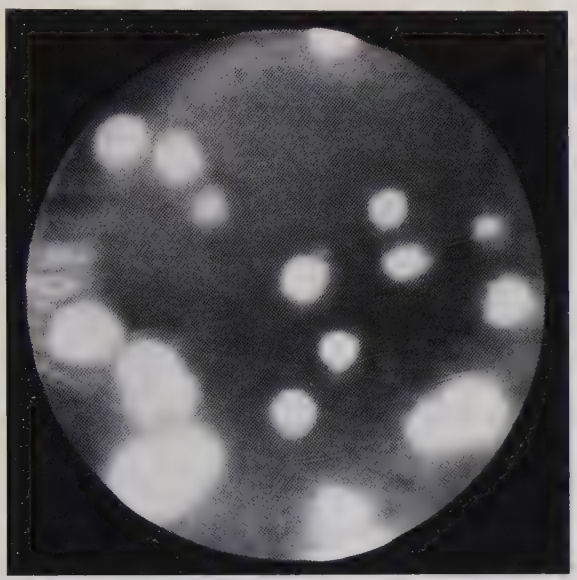


Abb. 7. Zahlreiche Herde von unterschiedlicher Größe und Aussehen, solitär und konfluierend

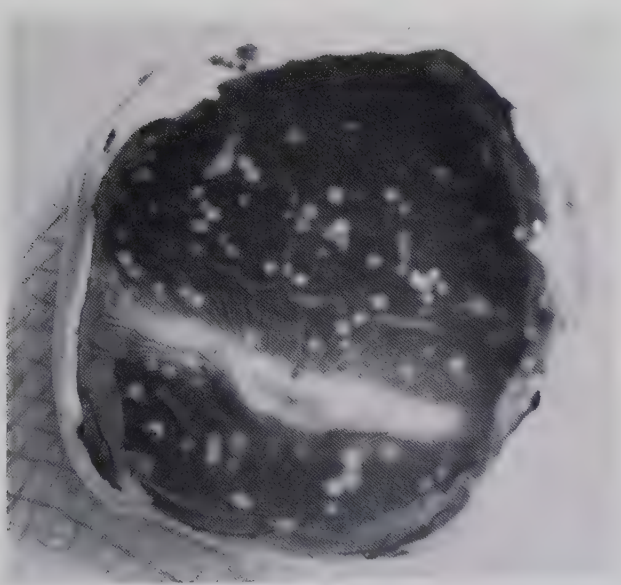


Abb. 8. Makroskopischer Schnitt des Bulbus von Abb. 7

d) Tierpassagen. Um die Pathogenität der aus Chorioidea und Retina rückgezüchteten Kolonien zu überprüfen, beimpften wir mit denselben mehrere unvorbehandelte Kaninchen intravenös. In allen Fällen er-

Abb. 9a u. b. Rückzüchtung aus der Aderhaut (a) und der Netzhaut (b). Die 1. Platte zeigt jeweils die angegangene Erstkultur, die 2. Platte die Weiterverimpfung auf Test-Agar

hielten wir wiederum Fundusherde. Die Dosis war einheitlich mit 0,11 mg/kg Körpergewicht gewählt worden. Die Herde glichen nach Zahl und Größe den bei gleicher Dosis ohne Tierpassage entstandenen (s. entsprechende Abbildung bei den quantitativen Versuchen). Eine Virulenzänderung war somit nicht zu verzeichnen.

II. Orientierende Mäuseversuche

Je fünf weiße und braune Mäuse erhielten intravenös 0,05 mg C. a.-Kultur (etwa 1915000 Zellen). Fundusherde ließen sich in keinem Fall erzeugen. Der Tod erfolgte am 8., 9. und 10. Tag p. i. nach tonisch-klonischen Krämpfen hauptsächlich der Hinterextremitäten. Bei einem Tier traten Lähmungen der Halsmuskulatur auf.

Abb. 10. Histologischer Nachweis der Erreger in der Netzhaut (PAS-Färbung)

Die *Rückzüchtung* von C. a. in Reinkultur gelang aus der Niere immer, aus dem Auge nicht.

Die durch diese *Tierpassage* erhaltenen Kolonien wurden später erneut auf Kaninchen verimpft. Es kam zu typischen Herden am Augenhintergrund, eine Virulenzsteigerung zeigte sich jedoch auch hierbei nicht.

III. Quantitative Kaninchenversuche

Da die Frage eines Zusammenhanges zwischen Zahl und Größe der Fundusherde einerseits und der Menge der injizierten Keime andererseits interessierte, gaben wir in Versuchsreihen aufsteigende Dosen von C. a.-Aufschwemmungen.

Jeweils 3 Tiere wurden mit 0,11 mg/kg Körpergewicht, 0,13 mg/kg Körpergewicht, 0,15 mg/kg Körpergewicht und 0,17 mg/kg Körpergewicht intravenös infiziert. Die Versuchsreihe mit 0,17 mg/kg Körpergewicht hatte eine große Mortalität, was die Beobachtung der Herdentwicklung sehr erschwerte und eine befriedigende Kurvendarstellung

unmöglich machte. Die Ergebnisse der übrigen Dosierungen sind in Abb. 11—13 dargestellt. Bei der Größenangabe „punktförmig" bis „großfleckig" handelt es sich jeweils um die durchschnittliche Herdgröße. Jede Abbildung zeigt an 3 Kurven den Verlauf bei den einzelnen Tieren.

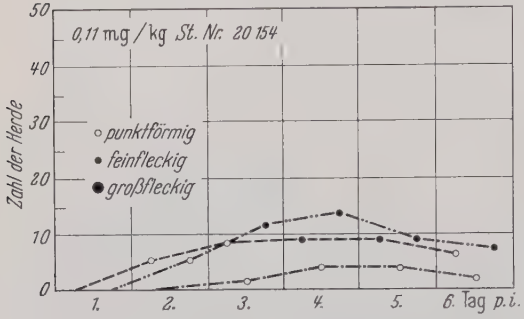


Abb. 11. Entwicklung der Herde nach Zahl und Größe bei einer Dosis von 0,11 mg/kg Körpergewicht

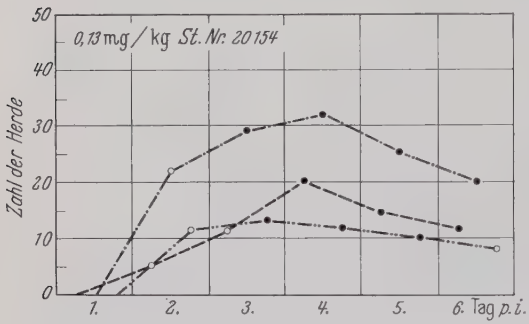


Abb. 12. Herdentwicklung bei 0,13 mg/kg Körpergewicht

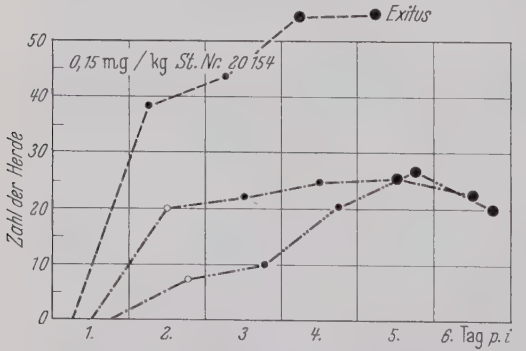


Abb. 13. Herdentwicklung bei 0,15 mg/kg Körpergewicht

a) 0,11 mg C. a./kg Körpergewicht (Abb. 11). Am 1. Tag nach der Injektion hatte eines der Tiere leichtes Fieber, die anderen boten keine auffälligen Erscheinungen. Am 2. Tag p. i. bildeten sich bei 2 Tieren einige kleine Fundusherde, beim 3. Tier erst am Tage darauf. Nach dem 3. Tag kamen keine neuen Herde mehr hinzu, die kleinsten verschwanden schon am 4. und 5. Tag wieder und 10 Tage nach der Injektion waren weder Herde noch Narben am Fundus sichtbar. Alle Tiere überlebten, schwerere Allgemeinerscheinungen traten nicht auf.

b) 0,13 mg C. a./kg Körpergewicht (Abb. 12). Nach leichtem Fieber und Freßunlust am 1. Tag hatten sich am 2. Tag bei allen Tieren Fundusherde ausgebildet, deren Zahl und Größe bis zum 4. Tag zunahm, um dann wieder abzunehmen. Die Vernarbung der mittelfleckigen Herde war nach spätestens 3 Wochen abgeschlossen. Zwei dieser Tiere zeigten allgemeine Komplikationen: Lähmungen der Hinterextremitäten mit

Blasen- und Mastdarminkontinenz, welche im Gegensatz zu den nach Krämpfen auftretenden Lähmungen der letal infizierten Tiere schleichend mit Ataxien begannen. Sie traten einmal am 1. Tag p. i., im anderen Falle erst nach 2 Wochen auf, ohne das Allgemeinbefinden der Tiere in stärkerem Maße zu beeinträchtigen. Die Tiere überlebten, wurden aber bald getötet. Makroskopisch zeigte sich am Gehirn kein pathologischer Befund.

c) 0,15 mg C. a./kg Körpergewicht (Abb. 13). Die Allgemeinsymptome (Fieber, Freßunlust, Stupor) waren bei allen Tieren erheblich stärker als bei denjenigen, die mit geringeren Dosen infiziert worden waren. Eines der Tiere verendete am 5. Tag. Seine Fundi waren von Herden übersät. Bei den überlebenden Tieren dauerte die Abheilung der großfleckigen Herde jedoch auch nur etwa 3 Wochen.

d) 0,17 mg C. a./kg Körpergewicht. Wenn die Tiere überlebten, kam es zur Ausbildung großer Herde von zwei- bis dreifacher Papillengröße, welche in den Glaskörper einbrachen (Abb. 5), dort wolkige Trübungen erzeugten und sich nur sehr langsam zurückbildeten. Sie brauchten Monate bis zur völligen Vernarbung.

Besprechung und Ergebnisse

Mit dem Problem der tierexperimentellen Erzeugung metastatischer Ophthalmien haben sich schon viele Arbeiten beschäftigt. Dabei kam es zu teilweise widersprechenden Ergebnissen. Manche Autoren, wie Antoniben, Panas, Rados, postulierten für das Angehen einer hämatogenen Infektion im Auge eine vorausgegangene Schädigung desselben und konnten diese Auffassung auch durch ihre Befunde belegen. Andere, wie Zanettin, hielten die vorherige Erzeugung eines Organotropismus durch Züchtung der Erreger auf Augengeweben für erforderlich.

Bei Betrachtung dieser Untersuchungen fällt jedoch auf, daß von einer großen Zahl infizierter Versuchstiere immer nur einige, in manchen Versuchsreihen gar keine, Augenerscheinungen bekamen. Die meist nicht standardisierte Erregermenge führte zu wechselndem Schweregrad und wechselnder Lokalisation der intraocularen Infektion. Oft verendeten die Versuchstiere, bevor es zu einer befriedigenden Beobachtung des Krankheitsprozesses am Auge gekommen war. Andererseits mußte gelegentlich die Frage, ob echte bakterielle Absiedlungen oder toxische Reaktionen vorlagen, unbeantwortet bleiben. Auch konnte der sichere Erregernachweis durch Rückzüchtung aus den befallenen Geweben mit positivem Ergebnis der Weiterverimpfung auf neue Tiere nur selten erbracht werden. So wurden wiederholt aus einigen und inkonstanten Befunden Rückschlüsse gezogen, die eine Verallgemeinerung nur schwer zuließen. Die Überprüfung durch andere Autoren stieß wiederum auf größere Schwierigkeiten, da die Versuche nicht reproduzierbar waren.

Unsere Versuchsanordnung bietet neben der langen Überlebenszeit der Tiere bei Verwendung einer nicht letalen Dosis den Vorteil der weitgehenden Wiederholbarkeit. Bei richtiger Erregermenge bleiben die regelmäßig auftretenden Herde auf den hinteren Bulbusabschnitt beschränkt, der Verlauf ihrer Entwicklung und späteren Rückbildung läßt sich ohne Schwierigkeiten beobachten. Da der Tod des Tieres praktisch nur vom Untersucher abhängt, kann histologisch das jeweilige Stadium der Entzündung fixiert und mit dem klinischen Bild verglichen werden. Daneben ist, wie spätere Versuche zeigen werden, durch die Standardisierung der Herdentwicklung mit einer exakt applizierbaren mittleren Erregermenge die Möglichkeit gegeben, die pharmakologische Beeinflussung dieser Herdentwicklung durch vasoaktive Substanzen zu studieren.

Unsere Ergebnisse erfüllen die von Jakob Henle 1840 für den Erregernachweis geforderte „Kochsche Trias", nämlich daß,

1. die Erreger regelmäßig in den Krankheitsprodukten zu finden sind,
2. aus ihnen nachweisbar und züchtbar sind und
3. ihre krankmachende Wirkung erneut im Tierversuch bewiesen werden kann.

Der selektive Befall des hinteren Augenabschnitts, welcher auch schon Stock bei Verwendung anderer Hefen aufgefallen war, läßt sich zur Zeit noch nicht erklären. Die von Heinsius anläßlich seiner klinischen Beobachtung einer metastatischen Cryptococcus-neoformans-Ophthalmie ausgesprochene Vermutung, daß Hefezellen nur auf bereits geschwächten Organismen angehen und es dort im Bulbus zur Ansiedlung komme, wo er bereits durch toxische Wirkungen des Erregers vorgeschädigt sei, ist jedenfalls für C. a. unwahrscheinlich, da für sie eine toxische Komponente oder ein Ektotoxin bisher noch nicht nachgewiesen werden konnten (Krauspe, Ruhrmann und Adam, Masshoff und Adam, Götz und Nasemann). Möglicherweise führen zur Klärung der Ursache dieser selektiven Lokalisation histologische Nachforschungen weiter.

In erster Linie sollen unsere Untersuchungen dem Studium der Entstehungs- und Ausbreitungsweise der metastatischen Ophthalmie dienen. Der erarbeitete Modellversuch kann jedoch speziellen klinischen Wert erlangen, da gerade die Hefepilze für die menschliche Pathologie stetig an Bedeutung gewinnen.

Seit Anwendung der Antibiotica ist eine echte Zunahme der durch hefeartige Organismen verursachten oder komplizierten Erkrankungen zu verzeichnen (Schirren, Rieth und Koch). Tetracyclin, Oleandomycin, Spiramycin und Novobiocin steigern bei Mäusen, welche zuvor mit einer auf 50% Mortalität eingestellten Dosis von Candida albicans infiziert worden waren, die Mortalität bis auf 100% (Andreoni, Cervini und Curatolo). In vitro läßt sich der wachstumsstimulierende Einfluß

verschiedener Antibiotica auf denselben Mikroorganismus nachweisen (Meyer-Rohn u. Mitarb.). Auch die weit verbreitete Meinung, daß viele Hefen als harmlose Saprophyten Haut und Schleimhäute besiedeln und nur sekundär pathogen werden können, ist mehr oder weniger nur eine Annahme. Ein saprophytisches Wachstum ist zwar prinzipiell möglich, bedeutet aber in keiner Weise eine generelle Harmlosigkeit. Nach Schirren et al. bedürfen primär-pathogene Hefen — was bekanntlich für *alle* Infektionen zutrifft — „lediglich geeigneter Bedingungen, um ein spezifisches Krankheitsgeschehen auszulösen, nicht aber eines anderen Keims als Vorreiter". Daß wahrscheinlich auch die Behandlung mit Steroiden das Eindringen der Erreger begünstigt, zeigen die oben angeführten Untersuchungen an der Hornhaut; zugleich werfen sie ein Licht auf die praktische Bedeutung, die diese mikrobiologischen Fragen und Beobachtungen auch für den Augenarzt besitzen.

Zusammenfassung

Beschreibung eines Modellversuchs zur reproduzierbaren Erzeugung metastatischer Ophthalmien durch die imperfekte Hefe Candida albicans.

Die Anordnung erlaubt auf Grund der geringen Mortalität der Versuchstiere eine beliebig lange Beobachtungszeit und ermöglicht die histologische Untersuchung zu dem vom Untersucher gewünschten Termin.

Wegen der erforderlichen speziellen mykologischen Technik werden die entsprechenden mikrobiologischen Arbeitsmethoden und die Standardisierung der Erregermenge besprochen.

Die zunehmende Bedeutung pathogener Hefepilze auch für die Augenheilkunde läßt den Ausblick auf eine klinische Verwendbarkeit zu, wenn auch die Untersuchungen in erster Linie einen Grundlagenbeitrag zur Frage der Entstehung und Ausbreitung der metastatischen Ophthalmie darstellen sollen.

Literatur

Albrich, K.: Intraokularer Pilzbefund. Orv. Hetil. **67**, 653 (1923). [Ungarisch.]
— Metastatische Augenentzündung durch Fadenpilz. Szemészet **61**, 16 (1928). [Ungarisch.]
— Beitrag zur Kenntnis der mykotischen Augenerkrankungen. Kongr.-Ber. der 45. Zus.kunft der Dtsch. Ophthalm. Ges. 1925, S. 203.
Andreoni, G., E. Cervini e D. Curatolo: Influenza di alcuni antibiotici sulla patogenicità della Candida albicans nel topino. G. Mal. infett. **10**, 722 (1958).
Antoniben, A.: Condizioni che possono determinare la localizzazione nei tessuti dell'occhio di germi circolanti. Boll. Oculist. **10**, 110 (1931).
Archangelskij, W. N.: Ein Schimmelpilz unter der Netzhaut, der einen Cysticercus simulierte. Klin. Mbl. Augenheilk. **81** (II), 211 (1928).
— Zur Frage der intraokularen Infektion mit Schimmelpilzen. Russk. oftal. Ž. 8, 75 (1928). [Russisch.]

Axenfeld, Th.: Über die eitrige metastatische Ophthalmie. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **40** (III), 1 u. **40** (IV), 103 (1894).
Birge, H. L.: Ocular aspects of mycotic infection. Arch. Ophthal. (Chicago) **47**, 354 (1952).
Budek, R.: Über zwei seltene Bulbusinfektionen. Prag. med. Wschr. **1914**, 9.
Buren, J. M. van: Septic retinitis due to candida albicans. Arch. Path. (Chicago) **65**, 137 (1958).
Buschke, A., u. A. Joseph: In Jadassohns Handbuch für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. XI, S. 893. Berlin: Springer 1928.
Busse, O.: Hefen als Krankheitserreger. Berlin: August Hirschwald 1897.
Cassady, J. V.: Uveal Blastomycosis. Arch. Ophthal. (Chicago) **35**, 84 (1946).
Cavara, V.: Le micosi oculari. (Trattato di micopat. umana. Vol. III.) Siena: Libr. edit. senese 1928.
Charrin, A., et J. Ostrowsky: L'oidium albicans agent pathogèn general. C. R. Soc. Biol. (Paris) **1896**, 743.
Cogan, D. G.: Endogenous intraocular fungous infection. Report of a case. Arch. Ophthal. (Chicago) **42**, 666 (1949).
Cohn, E.: Untersuchungen über eine neue tierpathogene Hefeart (Hefe Klein). Zbl. Bakt. **31**, 739 (1902).
— Weitere Untersuchungen über die Kleinsche tierpathogene Hefe. Zbl. Bakt., **33**, 688 (1903).
Corcelle, L.: Kératite à „candida albicans". Bull. Soc. Ophtal. France **1957**, 618.
Courtis, B.: Experimentelle Tuberkulose der Augen. Arch. Oftal. B. Aires **4**, 75 (1929). [Spanisch.]
Davids, H.: Über Aktinomycose der Hornhaut. Klin. Mbl. Augenheilk. **67**, 69 (1921).
Day, R.: Experimental ocular histoplasmosis. Amer. J. Ophthal. **32**, 1317 (1949).
Dimmer, F.: Ein Fall von Schimmelpilzerkrankung des Auges. Klin. Mbl. Augenheilk. **51** (II), 194 (1913).
Fazakas, A.: Über die Bedeutung der Pilze für die Augenheilkunde. Z. Augenheilk. **94**, 253 (1938).
— Actinomyces im Tränenkanal, auf der Bindehaut und der Cornea. Klin. Mbl. Augenheilk. **108**, 134 (1942).
— Zusammenfassender Bericht über meine ophthalmologischen Pilzuntersuchungen. Ophthalmologica (Basel) **126**, 91 (1953).
— Zusammenfassender Bericht über meine im Rahmen der Akademischen Arbeitsgemeinschaft durchgeführten ophthalmologischen Pilzuntersuchungen. Ophthalmologica (Basel) **128**, 163 (1954).
— Okulomykosen und ihre Behandlung. Klin. Mbl. Augenheilk. **127**, 701 (1955).
Fine, B. S., and L. E. Zimmerman: Exogenous intraocular fungus infections. With particular reference to complications of intraocular surgery. Amer. J. Ophthal. **48**, 151 (1959).
— – Post-operative mycotic endophthalmitis diagnosed clinically and verified histopathologically. Brit. J. Ophthal. **43**, 753 (1959).
Fine, M., and W. S. Waring: Mycotic obstruction of the nasolacrimal duct. (Candida albicans). Arch. Ophthal. (Chicago) **38**, 39 (1947).
Finoff, W. C.: Changes found in eyes of rabbits following injection of living tubercle bacilli into the common carotid artery. Amer. J. Ophthal. **7**, 81 (1924).
Fischer, B., u. C. Brebeck: Zur Morphologie, Biologie und Systematik der Kahmpilze, der Monilia candida Hansen und des Soorpilzes. Jena: Gustav Fischer 1894.
Fischl, R.: Entwicklung und gegenwärtiger Stand unserer Kenntnisse über die Soorkrankheit. Ergebn. inn. Med. Kinderheilk. **16**, 107 (1918).

Fuchs, E.: Keratomycosis aspergillina. Wien. klin. Wschr. **17** (1894).
— Ein Fall intraoculärer Aktinomycose. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **101**, 14 (1920).
Gaipa, M.: Blastomicosi brasiliana oculare sperimentale. Riv. ital. Tracoma **10**, 24 (1958).
Gerhardinger, R.: Considerazioni morfologiche su di un caso di ulcera corneale micotica. Riv. Anat. pat. **12**, 12 (1957).
Götz, H., u. Th. Nasemann: Über den Einfluß der Candida albicans auf den Hühnerembryo. Derm. Wschr. **130**, 774 (1954).
Goh, K.: Beiträge zur Kenntnis der Augenveränderungen bei septischen Allgemeinerkrankungen. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **43**, 147 (1897).
Grasset, H.: Zit. nach R. Fischl.
Grawitz, P.: Beiträge zur systematischen Botanik der pflanzlichen Parasiten mit experimentellen Untersuchungen über die durch sie bedingten Krankheiten. Virchows Arch. path. Anat. **70**, 546, 588 (1877).
Greetham, J. S., and T. A. Makley jr.: Intraocular fungus infection following cataract extraction. Arch. Ophthal. (Chicago) **58**, 558 (1957).
Haggerty, T. E., and L. E. Zimmerman: Mycotic keratitis. Sth. med. J. (Bgham, Ala.) **51**, 153 (1958).
Harley, R. D., and J. E. Mishler: Endogenous intraocular fungus infection. Trans. Amer. Acad. Ophthal. Otolaryng. **63**, 264 (1959).
Heinsius, E.: Metastatische Ophthalmie durch Blastomyceten. Klin. Mbl. Augenheilk. **117**, 136 (1950).
Herrenschwand, F. v.: Über eine metastatische Pilzinfektion in einem Auge. Z. Augenheilk. **79**, 223 (1932).
Herrnheiser, J.: Über metastatische Entzündungen im Auge und Ret. sept. (Roth). Prag. Z. Augenheilk. **14**, 41 (1893).
— Zur Kenntnis der Netzhautveränderungen bei sept. Allgemeinleiden. Klin. Mbl. Augenheilk. **32**, 137 (1894).
— Beiträge zur Kenntnis der metastatischen Entzündung im Auge und der Retinitis septica Roth. Klin. Mbl. Augenheilk. **30**, 393 (1892).
Hervouet, et A. Lenoir: Aspergillose cornéenne. Bull. Mém. Soc. franç Ophtal. **66**, 287 (1953).
Hoffmann, D. H., u. Th. Waubke: Über die Reproduzierbarkeit experimenteller metastatischer Ophthalmien durch Candida albicans. Ber. der 63. Zus.kunft der Dtsch. Ophthal. Ges. in Berlin 1960.
Hopff, W.: Über Methoden zur Prüfung antimikrobieller Substanzen in vivo. Diss. Univ.-Hautklinik, Hamburg 1955.
Jadassohn, W., u. K. Rehsteiner: Experimentelle Untersuchungen über die Infektion des Auges mit Achorion Quinckeanum. Klin. Mbl. Augenheilk. **85**, 280 (1930).
— Experimentelle Hyphomyceteninfektionen am Auge. Klin. Wschr. **10**, 308 (1931).
Kahler: Über septische Netzhautaffektionen. Prager Z. Heilk. **1**, 111 (1880).
Kampherstein: Über eine Schimmelpilzinfektion des Glaskörpers. Klin. Mbl. Augenheilk. **41** (I), 151 (1903).
Klein: Zit. nach Cohn.
Köllner, H.: Schimmelpilzerkrankung der Sklera. Z. Augenheilk. **16**, 441 (1906).
Kojima, S.: Experimentelle Untersuchungen über die Pathogenese der metastatischen Endophthalmie. Acta Soc. ophthal. jap. **41**, 341 (1937).
Krauspe, C.: Untersuchungen zur Biologie des Soorpilzes und zur Pathogenese der Soorkrankheit. Krkh.-Forsch. **4**, 1, 139 (1927).

Kreibig, W.: Beiderseitige metastatische Ophthalmie durch Blastomyceten. Klin. Mbl. Augenheilk. **104**, 64 (1940).

Leber, Th.: Keratomycosis aspergillina als Ursache von Hypopyonkeratitis. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **25** (II), 285 (1879).

Entwicklung von Fadenpilzen im Glaskörper nach Stichverletzung durch ein Messer. 26. Versammlung der Dtsch. Ophthal. Ges. 1897, S. 256.

— Die Entstehung der Entzündung und die Wirkung der entzündungserregenden Schädlichkeiten nach vorzugsweise am Auge angestellten Untersuchungen. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1891.

Leopold, E. v.: Zit. nach Sternberg.

Ley, A. P.: Experimental fungus infections of the cornea. Amer. J. Ophthal. **42**, 59 (1956).

—, and T. E. Sanders: Fungus keratitis. A report of three cases. Arch. Ophthal. (Chicago) **56**, 257 (1956).

Litten, M.: Über die bei der akuten malignen Endocarditis und anderen sept. Erkrankungen vorkommenden Retinalerkrankungen. Ber. 10. Tagg Dtsch. Ophthal. Ges. 1877, S. 140.

— Über septische Erkrankungen. Z. klin. Med. **2**, 382 (1881).

Lodder, J., and N. J.W. Kreger-van Rij: The Yeasts (Die Hefen). A taxonomic study. Amsterdam: North Holland Publ. Company 1952.

Löwenstein, A.: Zur Aktinomykose der Hornhaut. Klin. Mbl. Augenheilk. **52**, 859 (1914).

Lorenz, H.: Eine metastatische Ophthalmie durch Schimmelpilze. Diss. München 1933. Düsseldorf: G. H. Nolte 1933.

Masshoff, W., u. W. Adam: Histomorphologie der experimentellen Candida-Infektion. Arch. klin. exp. Derm. **204**, 416 (1957).

McCarthy, J. L., R. J. Kennedy and J. B. Hazard: Experimental ocular infection with nocardia asteroides in the normal rabbit. Arch. Ophthal. (Chicago) **62**, 425 (1959).

Mecca, M.: Micosi sperimentale del cristallino. Ann.Ottal. **66**, 481 (1938).

Mendelblatt, D. L.: Moniliasis. A review and a report of the first case demonstrating the Candida albicans in the cornea. Amer. J. Ophthal. **36**, 379 (1953).

Meyer-Rohn, J., u. Th. Lange-Brock: Untersuchungen zur Frage der Wachstumsstimulierung von Candida albicans durch Antibiotica. Arch. klin. exp. Derm. **204**, 58 (1957).

Minoda, Y.: Effects of antibiotics on some fungi isolated from ocular lesions. Acta Soc. ophthal. jap. **61**, 562 (1957).

Mitsui, Y., and J. Hanabusa: Corneal infections after cortisone therapy. Brit. J. Ophthal. **39**, 244 (1955).

Mondelski, St., and C. Majewski: Case of mycosis of the cornea. Pol. Tyg. lek. **1879**, 1956. [Polnisch.]

Montana, J. A., and Th. W. Sery: Effect of fungistatic agents on corneal infections with candida albicans. Arch. Ophthal. (Chicago) **60**, 1 (1958).

Müller, L.: Über Veränderungen im Augenhintergrunde bei miliarer Aktinomykose. Klin. Mbl. Augenheilk. **41** (I), 236 (1903).

Nobbe, W.: Entwicklung von Fadenpilzen im Glaskörper durch Stichverletzung nebst Untersuchungen über die Aspergillusmykose des Glaskörpers. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **45** (III), 700 (1898).

Nover, A.: Beiderseitige metastatische Ophthalmie durch Pilzembolien. Klin. Mbl. Augenheilk. **117**, 127 (1950).

Orlov, K.: Aspergillus als Erreger der Keratitis. Russk. oftal. Ž. **8**, 182 (1928).

Panas: Du rôle de l'infection par voie interne ou endosepsie en Ophtalmologie. Festschrift zu Helmholtz' 70. Geburtstag 1891.
Pannarale, M. R.: Candidosi oculari secondarie ad antibioticoterapia. (A proposito di un caso di grave cheratocongiuntivite da Candida albicans.) Boll. Oculist. **37**, 654 (1958).
Pergola, A.: Ricerche istopatologiche su di una micosi sperimentale dell'occhio da saccaromicetoide. Studi sassaresi **14**, 57 (1936).
Plaut, H. C.: Zit. nach Buschke u. Joseph.
Rados, A.: Experimentelle Untersuchungen über die hämatogene Metastase im Auge, nebst Bemerkungen über die Histologie der experimentellen metastatischen Ophthalmie. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **86**, 213 (1913).
Rebou as, A. A.: Augenmykosen. Rev. bras. Oftal. **12**, 107 (1953). [Portugiesisch.]
Reid, J. D., J. H. Scherer, P. A. Herbert, and H. Irving: Systemic histoplasmosis: Diagnosed before death and produced experimentally in guinea pigs. J. Lab. clin. Med. **27**, 419 (1942).
Rieth, H.: Untersuchungen zur Hefediagnostik in der Dermatologie. Arch. klin. exp. Derm. **207**, 413 (1958).
— K. Ito u. C. Schirren: Japanreis in der Hefe-Diagnostik. Hautarzt **9**, 36 (1958).
Rizzo, A.: Ricerche sperimentali sulla micosi oculare da „actinomyces asteroides". Ann. Ottal. **59**, 539 (1931).
Roberts, Sh. S.: Nystatin in monilia keratoconjunctivitis. A case report. Amer. J. Ophthal **44**, 108 (1957).
Roemer, P.: Über die intraoculare Schimmelpilzinfektion. Klin. Mbl. Augenheilk. **40** (I), 331 (1920).
Rohner, M., u. O. Huber: Aspergillus als Ursache von Erblindung. Schweiz. med. Wschr. **1933 I**, 181.
Roth, M.: Über Netzhautaffektion bei Wundfieber. Dtsch. Z. Chir. **1**, 471 (1872).
Ruhrmann, G., u. W. Adam: Tödliche pulmonale Moniliasis eines Säuglings. Virchows Arch. path. Anat. **327**, 273 (1955).
Sanfelice, G.: Zit. nach Sternberg.
Saubermann, G., u. H. J. Scholer: Aspergillose der Hornhaut. Basel u. New York: S. Karger 1959.
Schardt, W. M., A. C. Unsworth and C. V. Hayes: Corneal ulcer due to nocardia asteroides. Amer. J. Ophthal. **42**, 303 (1956).
Schirren, C., H. Rieth u. H. Koch: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Pathogenität von Hefepilzen. Arch. klin. exp. Derm. **210**, 86 (1960).
Schwartz, V. J.: Intraocular blastomycosis. Arch. Ophthal. (Chicago) **5**, 581 (1931).
Seguini, A.: Coroidite metastatica. Ann. Ottal. **51**, 301 (1923).
Selenkowsky, J., u. N. Woizechowsky: Experimentelles über die endogenen Infektionen des Auges. Arch. Augenheilk. **47**, 299 (1903).
Serra, G. M.: Un caso di cheratomicosi da Monilia. Boll. Oculist. **8**, 433 (1929).
Sigtenhorst, M. L., and W. D. Gingrich: Bacteriologic studies of keratitis. Sth. med. J. (Bgham, Ala.) **50**, 346 (1957).
Sinskey, R. M., and W. B. Anderson: Miliary blastomycosis with metastatic spread to posterior uvea of both eyes. Arch. Ophthal. (Chicago) **54**, 602 (1955).
Smith, C. H.: Ocular actinomycosis. Proc. roy. Soc. Med. **46**, 209 (1953).
Sternberg, C.: Experimentelle Untersuchungen über pathogene Hefen. Beitr. Path. Anat. **32**, 1 (1902).
Stock, W.: Pathol. anat. Untersuchungen über experimentelle endogene Tuberkulose der Augen des Kaninchens. Klin. Mbl. Augenheilk. Beilageh. **1903**, 17.
— Experimentelle Untersuchungen über Lokalisation endogener Schädlichkeiten, besonders infektiöser Natur im Auge usw. Klin. Mbl. Augenheilk. **41**, 81, 228 (1903).

Stock, W.: Über experimentelle hämatogene Erkrankungen des Auges und seiner Adnexe bei Kaninchen durch pathogene Hefen. Beitr. path. Anat. **43**, 470 (1908).
— Eine metastatische Ophthalmie durch Schimmelpilze. Klin. Mbl. Augenheilk. **76**, 49 (1926).
Stoewer: Über die Wirkung pathogener Hefen am Kaninchenauge. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **48**, 178 (1899).
Stoos, M.: Zur Ätiologie und Pathologie der Anginen, der Stomatitis und des Soors. Basel u. Leipzig: C. Salmann 1895.
Süchting, O.: Glaskörperabszeß, hervorgerufen durch Pilzinfektion. Z. Augenheilk. **74**, 243 (1931).
Sykes, E. M.: Fungous infection of the cornea: Case report of keratomycosis due to Monilia. Tex. St. J. Med. **42**, 330 (1946).
Tamponi, M., e M. Mecca: Micosi sperimentale del cristallino. Boll. Sez. region. Soc. ital. Derm. **3**, 368 (1937).
Taschdjian, C. L.: A simply prepared identification medium for Candida albicans. Mycologia (N. Y.) **45**, 474 (1953).
Uthoff, W.: Beiträge zur pathologischen Anatomie des Auges. III. Partielle Nekrose der menschlichen Hornhaut durch Einwanderung von Schimmelpilzen. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **29** (III), 178 (1883).
—, u. Th. Axenfeld: Beiträge zur pathologischen Anatomie und Bakteriologie der eitrigen Keratitis des Menschen. VII. Keratomycosis aspergillina durch Hineinwerfen von Erde. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **42** (I), 114 (1896).
Urrets-Zavalia jr., A. C. Remonda and N. Ramacciotti: Peculiar type of corneal ulcer associated with Candida mycoderma. Amer. J. Ophthal. **46**, 170 (1958).
Verhoeff, F. H.: Mycosis of the choroid following cataract extraction, and metastatic choroiditis of the other eye, producting the clinical picture of sympathetic uveitis. Arch. Ophthal. (Chicago) **53**, 517 (1924).
— A case of metastatic intraocular mycosis. Arch. Ophthal. (Chicago) **55**, 225 (1926).
Virchow, R. v.: Über Kapillarembolie. Virchows Arch. path. Anat. **9**, 130 (1856).
Wagenmann, A.: Ein Fall von doppelseitiger metastatischer Ophthalmie im Puerperium durch multiple Streptokokkenembolie. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **33**, 147 (1887).
Waubke, Th.: Experimentelle Untersuchungen zur metastatischen Ophthalmie. Ber. 62. Zus.kunft der Dtsch. Ophthal. Ges. Heidelberg 1959.
Wegner, W.: Experimentelle hämatogene „isolierte" Augentuberkulose. Arch. Augenheilk. **108**, 280 (1933).
Weiss, Ch., I. H. Perry and M. C. Schevky: Infection of the human eye with cryptococcus neoformans. Arch. Ophthal. (Chicago) **39**, 739 (1948).
Wilder, H. C., and J. H. Bickerton: Organisms identified in inflammatory lesions of eyes in the registry of ophthalmic pathology. Arch. Ophthal. (Chicago) **53**, 575 (1955).
Wolter, J. R.: Persönliche Mitteilung.
—, Th. Stratford and E. R. Harell: Cast-like fungous obstruction of the nasolacrimal duct. Report of a case. Arch. Ophthal. (Chicago) **55**, 320 (1956).
Zanettin, G.: Localizzazione elettiva dello stafilococco nell'occhio. Ann. Ottal. **61**, 20 (1933).

Dr. D. H. Hoffmann, Oberarzt
an der Univ.-Augenklinik, Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52
Dr. Th. Waubke,
Oberarzt der Städt. Augenklinik, Dortmund

v. Graefes Archiv für Ophthalmologie 164, 197—219 (1961)

Beitrag zur Genetik des Glaukoms beim Kaninchen

Von

K. Magnussen

Mit 6 Textabbildungen

Einleitung

Glaukom ist eine Erhöhung des intraocularen Druckes mit dadurch verursachter Schädigung des Auges. Für das Ausmaß der Schädigung ist maßgebend, zu welchem Zeitpunkt und mit welcher Intensität die Druckerhöhung einsetzt, welche Höhe sie erreicht und wie lange sie dauert. Endzustand kann das „absolute Glaukom" sein. Dabei ist das Auge durch die Summierung der Schädigungen erblindet.

Während der Kliniker die Krankheitsbilder nach den Symptomen betrachten muß, wird der Genetiker, der nach der Beteiligung von Erbanlagen an der Entstehung der Krankheitsbilder fragt, oft symptomatisch ähnliche Zustände trennen und voneinander abweichende Krankheitsbilder zusammenfassen müssen, wenn gleiche Ursachen, nämlich gleiche Erbanlagen, vorliegen.

Den Genetiker interessieren, wie den Kliniker, alle Faktoren, die an der Druckregulierung des Auges beteiligt sind, denn die Störung jedes einzelnen Faktors kann unter Umständen zum gleichen Symptom führen, das morphologisch oder funktionell (bzw. pathophysiologisch) Endglied einer Reaktionskette darstellt. Dadurch wird von vornherein mit der Möglichkeit verschiedener mutierter Erbanlagen gerechnet, die zu dem Symptomenkomplex „Glaukom" führen können.

Zu den Faktoren, die für den Augendruck verantwortlich sind, gehören u.a.:

1. die Beschaffenheit des Bulbus, dessen Elastizität sich mit dem Alter vermindert;
2. die Elastizität der Hornhaut;
3. der Zustrom des Kammerwassers (Beschaffenheit der Gefäßwände u.a.);
4. der Abfluß des Kammerwassers (die Beschaffenheit des Abflußsystems: Kammerwinkel, Schlemmscher Kanal, Trabekel, abführende Venen);
5. das zentral gesteuerte Druckregulierungssystem;
6. wahrscheinlich Fermentsysteme, die Einfluß auf den Druck im Auge haben.

Zustrom und Abfluß des Kammerwassers können durch Veränderung von Arteriolen, Capillaren oder Venolen in verschiedener Weise beeinflußt werden. Gefäßstörungen allgemeiner (oder auf das Auge beschränkter) Art können also sekundär eine Störung hervorrufen oder die Entstehung einer Störung begünstigen. Altersveränderungen der Gefäße müssen also bei der Betrachtung der Glaukomentstehung besonders berücksichtigt werden. Fermentsysteme, die druckregulatorisch wirken, können durch mutierte Gene verändert werden.

Trifft der erhöhte Innendruck das Auge eines Neugeborenen oder sogar eines Fetus, so ist eine starke Dehnung des Bulbus die Folge: *Hydrophthalmus congenitus*. Das auffallende Hauptsymptom, die Vergrößerung des Bulbus, kann mehr oder weniger stark noch so lange auftreten, wie die Sklera noch dehnbar ist. Beim Menschen wird das Auftreten von Hydrophthalmus bis zum Alter von 12 Jahren beschrieben. (Nach statistischen Erhebungen — vgl. Steindorff — muß mit der Möglichkeit eines Bulbuswachstums bis zum 25. Lebensjahr gerechnet werden.) Trifft der erhöhte Augendruck auf eine noch elastische Cornea, so wird eine Vorwölbung und Vergrößerung die Folge sein: *Megalocornea*.

Tritt die Drucksteigerung erst in einem Alter auf, in dem die Augenhüllen schon fest sind, so ist kein Ausweichen möglich. Am Locus minoris resistentiae, der Papille, entsteht eine *Exkavation*. Der Druck wirkt sich auf die inneren Gefäße des Auges aus, und die Netzhaut wird geschädigt: mehr oder weniger starke *Gesichtsfeldausfälle*. Außerdem kann die empfindliche innere Schicht der Cornea, die *Descemetmembran Risse* bekommen. Auch Hornhauttrübungen können auftreten. Augendruckerhöhungen in jeder Altersstufe können früher oder später, je nach Höhe und Dauer, zu den genannten Symptomen und dann zur Erblindung führen. „Jugendglaukom" kann zwischen dem 5. und 35. Lebensjahr auftreten. Nach dieser Zeit tritt die Glaukomform des Erwachsenen auf.

Der Kliniker unterscheidet beim Menschen das *„primäre Glaukom"*, das im vorher gesunden Auge ohne bekannte klinische Ursachen auftritt, und das *„sekundäre Glaukom"*, das als Folge einer vorangegangenen Erkrankung oder Schädigung des Auges beobachtet wird. Während die erste Form in der Regel beide Augen befällt, kommt die zweite oft einseitig vor. Die Fälle von sicher „erworbenem" Glaukom ohne Beteiligung von Erbanlagen sind zwar für die Erforschung des Erbmodus ohne Interesse. Sie können jedoch Hinweise darauf geben, was im Auge geschädigt sein kann, wenn Glaukom entsteht, und damit zum Verständnis der Wirkungsweise der Gene beitragen. Sie können also auch für den Genetiker wichtig sein.

In seiner zusammenfassenden Darstellung, die die gesamte Glaukomliteratur der letzten drei Jahrzehnte berücksichtigt, teilt Leydhecker in seiner Monographie (1960) die primären Glaukome ein in:

1. Glaucoma simplex, das erst im Spätstadium zu Sehstörungen führt (Kammerwinkel bei Druckspitzen offen).

2. Akutes Winkelblockglaukom mit kongestiven (hyperämischen) und nichtkongestiven Phasen (Kammerwinkel bei Druckanstieg verlegt, im Intervall eng, aber offen).

3. Chronisch-kongestives Glaukom mit subakuten oder akuten Glaukomanfällen mit gesteigertem Druck auch in den Intervallen. Spätstadium des Glauc. simplex durch Synechien im Kammerwinkel.

Bei längerem Bestehen Gesichtsausfall und Exkavation.

Absolutes Glaukom: Erblindung. Endform aller drei Formen (und der sekundären Glaukome).

Leydhecker stellte bei umfangreichen Reihenuntersuchungen fest, daß erste, subjektiv noch nicht bemerkbare Glaukomsymptome oft bereits sehr viel früher auftreten können, als früher vermutet wurde, so daß es 20 Jahre dauern kann, bis (bei beginnender geringer Drucksteigerung) ein sicherer Gesichtsfeldausfall eintritt.

Engelking (1960) stellt der *kompensierten Form* des Glaucoma simplex die *unkompensierte Form* des Glaucoma inflammatorium gegenüber. Die erste kann jederzeit in die zweite übergehen (verschiedene Zustände *einer* Krankheit). Es gibt viele Patienten, die zeitlebens niemals einen Glaukomanfall bekommen. Im Prodromalstadium besteht Neigung der Pupille zur Erweiterung bei mangelhafter Reaktion auf Belichtung. Beim Fortschreiten zeigen sich erste Druckzeichen im Fundus: Pulsation der Zentralarterie, bei weiterem Druckanstieg venöse Stase, harte Spannung des Bulbus, flache Vorderkammer, Ödem, Trübung der lichtbrechenden Teile, Veränderungen der Hornhaut, Erweiterung und Starre der Pupille, Schmerzen. Lider und Bindehaut können beteiligt sein. Ein Glaukomanfall kann Tage oder sogar Wochen dauern und im absoluten Glaukom mit Erblindung, Glaskörper- und u. U. Linsentrübung enden. Die letzte Form der Betrachtungsweise liegt dem Genetiker mehr als die erste.

Neben diesen Formen bzw. Entwicklungsstufen des Erwachsenenglaukoms (auch als „juveniles Glaukom" vom 5. bis 35. Lebensjahr möglich) steht der *Hydrophthalmus* und das „infantile Glaukom" (bis zum 12. Lebensjahr beobachtet). Durch die starke Dehnung des Bulbus mit Verdünnung der Sklera und Vergrößerung und Vorwölbung der Hornhaut (wodurch die vordere Augenkammer vertieft wird) unterscheidet sich dieses Krankheitsbild rein äußerlich vom Erwachsenenglaukom. Die Cornea kann bei der Geburt getrübt, aber auch noch klar sein, Veränderungen durch Risse der Descemet-Membran können sichtbar, Exkavation und atrophische Veränderungen am Fundus können vorhanden sein. Der Verlauf führt meist reizlos und chronisch bis zur Erblindung.

Die Vererbung verschiedener Glaukomformen beim Menschen

Über die Vererbung des Glaukoms liegen zahlreiche Beobachtungen vor, die aus der älteren Literatur z. B. von Löhlein (1938) und A. Vogt u. Schläpfer (1940), aus den letzten Jahrzehnten von Leydhecker (1960) zusammengestellt sind. Danach ergibt sich, daß Gl. simplex sich meist dominant vererbt. Das gilt auch für das juvenile Glaukom (= früh manifestiertes Erwachsenenglaukom), das die gleiche Verlaufsform zeigt. Einige Autoren (wie z. B. Waardenburg 1950, zit. bei Leydhecker) fanden jedoch in ihren Sippen mit primärem Glaukom häufiger recessiven als dominanten Erbgang.

Aus der Zusammenstellung der Forschungsergebnisse über Hydrophthalmus (= Frühglaukom) ergibt sich dagegen, daß in den weitaus meisten Fällen recessiver Erbgang vorliegt. Aber auch hier liegen die Verhältnisse offenbar nicht so einfach. Bei den Stammbäumen von Brons (1937, von 172 Patienten ausgehend, 19 Fälle mit gehäuft familiärem Auftreten) ergibt sich der Nachweis der Blutsverwandtschaft bei einem großen Teil der Familien. In anderen wurde dagegen „direkte Übertragung" von einem Elter auf ein Kind beobachtet, ohne daß in den berücksichtigten Generationen Blutsverwandtschaft nachzuweisen war. Ähnliche Unterschiede finden sich auch bei anderen Autoren, ohne daß aus den Angaben der Befunde eine Erklärung dafür gegeben werden kann. Ein Teil davon wird sicher als recessiv zu betrachten sein. Ob in einer Familie aber verschiedene primäre Glaukomformen „durcheinander" vererbt werden, wie einzelne Autoren annehmen (was theoretisch möglich wäre), müßte mit genaueren Methoden geklärt werden. Es ist aber wohl eher anzunehmen, daß wir mit den Extrembegriffen „dominant" und „recessiv" nicht in allen Fällen auskommen, auch wenn wir das Vorhandensein mehrerer genetisch verschiedener Formen als erwiesen annehmen. Das häufigere Befallensein männlicher Individuen z. B. beim Hydrophthalmus gibt einen Hinweis darauf, daß bei der Manifestation des Glaukoms noch andere Faktoren wirksam sein können. Ob auch gonosomaler Erbgang vorkommt, ist noch nicht bewiesen. Mit dem Neuauftreten von Glaukommutationen muß gerechnet werden.

Das Problem Glaukom-Megalocornea

Ein besonderes Problem bietet die Vererbung der Megalocornea und ihre Beziehung zum Glaukom. Im Laufe der ophthalmologischen Geschichte sind die Ansichten darüber nicht einheitlich gewesen. Während einige Autoren Megalocornea als „Mikroform" des Glaukoms oder als „Hydrophthalmus sanatus" ansehen, hat sich durch die Arbeiten einiger Forscher (zusammengestellt bei Seefelder) gezeigt, daß es wohl sicher eine „normale" erbliche Megalocornea gibt, die nichts mit Glaukom zu tun hat und sich nur durch das Merkmal „vergrößerte Hornhaut" auszeichnet. Die Vererbung erfolgt nach den Untersuchungen von Grönholm (1921), Kayser, Gertz, Stähli u. a. gonosomal-recessiv, also nach

einem anderen Erbmodus als bei beiden genannten erblichen Glaukomformen. Das bedeutet, daß das Gen für isolierte Megalocornea im X-Chromosom liegt und von den autosomalen Glaukomgenen unabhängig vererbt wird.

Megalocornea ist aber auch ein Glaukomsymptom, das durch Vorwölben der noch dehnbaren Cornea durch vergrößerten Augeninnendruck entsteht. Die Untersuchungen von K. vom Hofe (1951 und früher), Glees u. Ried, Trautmann (1952) und Oppel (1957) bringen den Nachweis für das Vorkommen von Megalocornea und Glaukom in einer Familie, z.B. Glaukom bei Kindern von *einem* Elter mit Megalocornea, aber auch bei einer Person nebeneinander im rechten und linken Auge. Da diese Form des erblichen Glaukoms besonders große Ähnlichkeit mit der Glaukomform unserer Kaninchen hat, ist diese Literatur besonders berücksichtigt.

Vogt (1933) diskutiert einen von Notz untersuchten Stammbaum mit excessiver Megalocornea mit auffallend tiefer Vorderkammer, von der besonders männliche Mitglieder bei vermutlich dominantem Erbgang betroffen waren. Bei einem der Patienten entwickelte sich später ein Glaukom. Vogt stellt fest, daß die Grenzen zwischen Megalocornea und Glaukom doch nicht so scharf sind, wie früher angenommen wurde.

Trautmann (1952) beschreibt ein Ehepaar mit einem 9 Monate alten Sohn mit beiderseitigem „Buphthalmus" (Druck 60 mm Hg). Während die Augen der Mutter normal waren, hatte der Vater Megalocornea (rechts 14 mm, links 15 mm Hornhautdurchmesser) mit sehr tiefer Vorderkammer und physiologischer Exkavation. Bei Provokationsversuchen wurde der Augendruck (15 bzw. 12 mm Hg) bei ihm nicht erhöht, so daß kein Verdacht auf Glaukom bestand. In der Familie des Vaters sollen große Augen häufig vorkommen. (Wenn die Mutter nicht Anlageträgerin ist, kommt gonosomaler Erbgang nicht in Frage.)

Vom Hofe (1951) beschreibt 20 Fälle mit Corneadurchmesser über 13 mm, davon fünf, die auf Provokation mit Drucksteigerung reagierten bzw. später Glaukom bekamen. Bei 15 der Patienten war kein Nachweis einer Glaukomdisposition möglich. Bei einer Patientin fand sich rechts Megalocornea mit klarer Hornhaut, normaler Vorderkammer und keinerlei Glaukomzeichen, links dagegen „Buphthalmus". Marchesanis Feststellung, daß es in einzelnen Fällen nicht möglich ist, bei einem Patienten sicher Megalocornea oder Hydrophthalmus zu diagnostizieren, wird in dieser Arbeit zitiert.

Oppel (1957) hat einen ähnlichen Fall beobachtet: ein Mädchen, das im Alter von 4 Wochen einen „Buphthalmus" beiderseits mit Hornhautdurchmesser von 14 mm und i.o. Druck bis 77 mm Hg hatte. (Im Alter von 2 Jahren nach operativer Behandlung Druck bis 40 mm Hg ohne Descemetrisse, Exkavation und Sehstörungen.) Beim Vater bestand Megalocornea beiderseits (über 13 mm) bei tiefer Vorderkammer. Glaukomsymptome fehlten, und bei mehreren Belastungsproben stieg der i.o. Druck nie stärker als um 3 mm. Geringe Sehstörungen bei Erregung wurden früher gelegentlich vom Patienten bemerkt. Vom Hofe weist darauf hin, daß bei kurz dauerndem Druckanstieg Descemetrisse und Exkavation oft fehlen und daß es daher ein sicheres Kriterium zur Unterscheidung von Megalocornea und Glaukom nicht gibt. Beim Vater (mit Megalocornea) eines Glaukomkindes wird ein solches Glaukom ohne Symptome vermutet. *Hier liegt sicher keine Megalocornea vom Typus Kayser-Grönholm vor.*

Aus diesen Beobachtungen ergibt sich, daß es wahrscheinlich eine isolierte erbliche Megalocornea gibt, die sich gonosomal-recessiv vererbt und nichts mit dem erblichen Glaukom zu tun hat, das sich sicher autosomal vererbt. Daß alle erblichen Glaukomformen genetisch auf *eine* Anlage zurückzuführen sind, ist wohl zweifelhaft. Nach den vorliegenden Untersuchungen mußte mit mindestens zwei genetisch verschiedenen Typen gerechnet werden: dem recessiv erblichen Hydro-

phthalmus und einer wahrscheinlich dominanten Form, die sich später manifestiert. Megalocornea ist dabei ein Symptom, das entstehen kann, wenn zu einer Zeit, in der die Cornea noch elastisch ist, mehr oder weniger lange ein erhöhter intraocularer Druck geherrscht hat.

Vielleicht kann man eine Parallele der isoliert vererbten Megalocornea im Albinismus solum bulbi des Menschen sehen, der sich ebenfalls gonosomal vererbt und nichts mit dem autosomal-recessiven totalen Albinismus zu tun hat. Der Unterschied liegt nur darin, daß der totale Albinismus stets in seinem vollen Phänotypus auftritt, so daß die roten Augen dabei stets nur ein Teilsymptom sind, während beim Glaukom offenbar eine starke Variationsbreite vorhanden ist. Hier kann also das eine Symptom „Megalocornea" als einzige sichtbare Auswirkung des Glaukomgens in Erscheinung treten, so daß eine Verwechselung mit dem Erbmerkmal „isolierte Megalocornea" möglich ist.

Die Tatsachen, daß bei einem Menschen mit der Diagnose „Megalocornea" nach längerer Zeit ein Glaukom entstehen kann, daß bei einem Menschen an einem Auge Megalocornea, auf dem anderen Glaukom beobachtet wurde und daß ein Elter mit Megalocornea Kinder mit Glaukom haben kann, weisen darauf hin, daß es sich bei solchen Formen von Megalocornea um ein Teilsymptom von Glaukom handeln muß, auch wenn das Glaukom als Vollbild bei dem einzelnen Menschen nicht manifest wird.

Bisherige Beobachtungen über erbliches Glaukom beim Kaninchen

Glaukom ist bei verschiedenen Haustieren in Einzelfällen beobachtet worden (vgl. Nachtsheim). Über Vererbung liegen jedoch nur Forschungen am Kaninchen vor. Die erste Beobachtung geht auf A. Vogt (1919—1921) zurück, der Wurfgeschwister mit Hydrophthalmus aus einem Kaninchenstamm (Schecken) kreuzte und drei Junge mit beiderseitigem hochgradigem Hydrophthalmus (z.T. mit bandförmiger Hornhauttrübung der Lidspaltenzone) erhielt. Die Störung war nicht angeboren, sondern trat einige Wochen nach der Geburt auf. Franceschetti (1930) erhielt bei den Kreuzungen von gesunden Kaninchen mit Hydrophthalmustieren in der F_1-Generation nur gesunde Tiere, in der F_2 war $^1/_4$ der Tiere befallen. Das Bild dieser Tiere zeigt stark vergrößerte Augen mit mehr oder weniger starker Hornhauttrübung. Bei Kreuzung zweier befallener Tiere hatten diese nur befallene Junge. Diese beiden Beobachtungen weisen auf recessiven Erbgang hin. Nachtsheim (1937) fand Hydrophthalmus in einem Oldenburger Chinchillastamm. Die Jungen waren zunächst gesund. Erst wenn sie 5 Wochen alt waren, stieg der Augendruck, und der Augapfel schwoll sehr stark an. Krankheitsbild und Erbgang entsprachen dem der Stämme von Vogt und Franceschetti. Die Auswirkung des Gens war variabel, und Überschneidungen mit Normalen erschienen möglich. Der Stamm konnte nicht weitergezüchtet werden.

Von Hirschfeld in Holland (1938) und von Castle in den USA (1940) wurden weitere Fälle von Hydrophthalmus beobachtet und als recessiv erblich beschrieben. Bei Hirschfelds Tieren trat die Krankheit

im Alter von etwa 3 Monaten auf (milchige Hornhaut, starkes Hervortreten des Bulbus). R. Robinson (1958) berücksichtigt in seiner Zusammenstellung noch weitere Arbeiten: von Babel (1944), bei dessen Tieren der Hydrophthalmus im Alter von 4—6 Monaten die Augen groß und vorstehend erscheinen ließ, und von G. Geri (1954 u. 1955), der einen Hydrophthalmusstamm mit Undurchsichtigkeit der Cornea und Desorganisation des Bulbus beschreibt. Hier ist die Manifestation sicher bilateral und konstant. Das Gen wird als semiletal angesehen. Recessiver Erbgang wird auch von den beiden letzten Autoren angenommen.

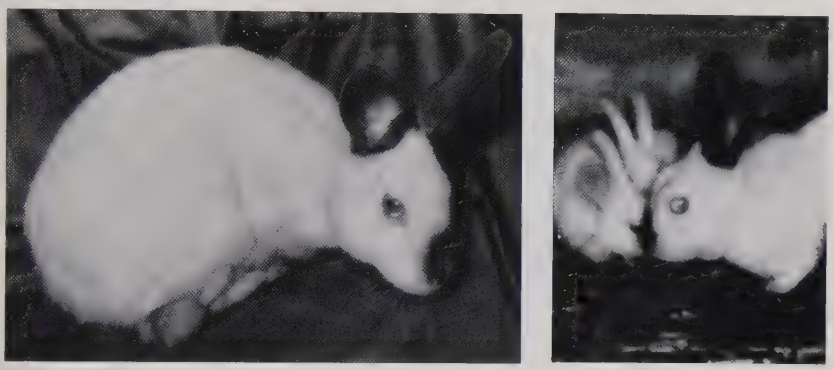
Die genetischen Beziehungen zwischen diesen zahlreichen Genen, die in verschiedenen Ländern beobachtet wurden, sind, wie Robinson feststellt, völlig unbekannt, so daß man weder jedes Gen mit einem eigenen Symbol bezeichnen noch alle Fälle auf die gleiche Gen-Mutation zurückführen kann. Jedenfalls ergibt sich aus der Beobachtung an so vielen verschiedenen Stellen, daß Mutationen, die beim Kaninchen Glaukom hervorrufen, nicht ganz selten vorkommen.

Die Bezeichnung „Buphthalmus", die von einigen Autoren für erblichen Hydrophthalmus beim Kaninchen verwendet, von Jaensch u.a. für eine im Jugendalter erworbene (nichterbliche) Glaukomform und von anderen Autoren für erblichen Hydrophthalmus benutzt wird, sollte vielleicht im Interesse der Vergleichbarkeit von menschlichem und Kaninchenglaukom besser vermieden werden, solange der Begriff nicht einheitlich definiert ist.

Eigene Beobachtungen über Glaukom beim Kaninchen

In unseren Zuchten beobachteten wir zum ersten Mal im Jahre 1958 einen Fall von beiderseitigem Glaukom. Das betroffene Tier, die Russenhäsin 5745, geb. im April 1957, fiel durch große Augen und durch ihr eigenartiges Verhalten auf. Im Alter von einigen Monaten (3 Jungtiere saßen in einer Bucht zusammen) saß dieses Tier meist scheu in einer Ecke. Die Pupillen waren sehr weit, was bei den albinotischen Augen besonders auffiel. Wenn das Tier an der Rückwand der Bucht saß, konnte man deutlich die Gefäße des Augenhintergrundes erkennen. Im Alter von einem Jahr hatte das Tier so weite Pupillen, daß die Iris kaum noch zu sehen war. Die Augen waren stark vorgewölbt, und der Druck war fühlbar erhöht, so daß der Verdacht auf Glaukom ziemlich eindeutig war. In den folgenden Monaten wurde der Fundus deutlich blasser, und eine ganz leichte Trübung der lichtbrechenden Medien war zu beobachten. Dem Verhalten nach mußte das Tier blind sein. Die Pupillen reagierten kaum auf Licht (Abb. 1a, b). Bei der opthalmologischen Untersuchung durch Herrn Prof. Friemann im August 1959 ergab sich, daß die Netzhaut durch den Augendruck zerstört war. Der morphologische Befund war also wie erwartet und entsprach dem Verhalten des Tieres.

Bei der laufenden Beobachtung des Tieres im Stall ergaben sich noch einige Hinweise auf die Veränderungen der Augen. Im Alter von 2 Jahren saß es meist an die Wand gedrückt, die linke Seite nach vorne gerichtet und den Kopf schräg nach oben gehalten. Der Fundus, mit dem bloßen Auge gut zu erkennen, da die lichtbrechenden Medien kaum getrübt waren, wirkte völlig blaß. Auf Handbewegung hin konnte Augenbewegung erfolgen, wobei eine rote, gut durchblutete Stelle des Fundus hinter der Pupille erschien, die dann wieder weggedreht wurde. Wahrscheinlich konnte noch eine kleine periphere Region der Netzhaut Reize



a b

Abb. 1a u. b. ♀ 5745, Glaukom a etwa $2^1/_4$ Jahre alt; b 3 Jahre alt (Rasse mit albinotischen Augen)

aufnehmen, obgleich die Pupille auf Lichtreiz (Taschenlampe) nicht mehr verengt wurde. 1958 hatte das Tier vier, 1959 fünf Junge. Dabei war auffallend, daß die Häsin weniger scheu war und auch am Tage zum Fressen nach vorne kam, wenn sie Junge im Alter von über 4 Wochen hatte, die mitfraßen. Das Tier wurde im Alter von $2^1/_4$ Jahren abgesetzt. (Die histologische Untersuchung der Augen wird Herr Prof. Friemann zu einem späteren Zeitpunkt vornehmen.)

Das Tier 5745 stammte aus einer Rückkreuzung des Russenrammlers 5659 mit seiner Mutter (Orangesepia 5233). Beide Eltern hatten unauffällige Augen. Unter den sechs Geschwistern von ♀ 5745 starben vier im Alter von etwa 3 Monaten durch ungeeignetes Futter, ein weiteres wurde im Alter von 4 Monaten abgesetzt, ohne daß ein Befund über die Augen notiert wurde. Zu dieser Zeit war bei 5745 noch kein pathologischer Befund aufgefallen, so daß kein Grund vorlag, bei den Geschwistern auf Glaukomsymptome zu achten. Das letzte Tier aus dem Wurf, das im Alter von 11 Monaten abgesetzt wurde (♀ 5748) hatte auffallend große Augen, zeigte aber kein abnormes Verhalten.

Zur Weiterzucht wurde keine Rückkreuzung angesetzt, da Russenkaninchen für die laufenden Versuchsreihen nicht zu brauchen waren. Statt dessen wurde ein blutsverwandter Rammler 5757 gewählt, der aus einer Familie mit großen Augen stammte, selbst aber anscheinend normal war. Von den vier Jungen starben zwei

im Alter von wenigen Monaten. Die beiden überlebenden hatten ziemlich große, vorstehende Augen: Megalocornea, besonders ♀ 5860. Im Alter von 15 Monaten bestand noch kein Glaukom, Netzhautveränderungen fehlten (Untersuchung durch Herrn Prof. Friemann).

Abb. 2. ♂ 5857 Glaukomverdacht. Alter $1^1/_4$ Jahr

Zur Prüfung, ob ein latentes Glaukom vorlag, wurde bei ♀ 5860 im Alter von 15 Monaten zweimal wöchentlich ein Tropfen Atropin in den Bindehautsack des linken Auges eingetropft (etwa 5 Wochen). Nach 20 Tagen: linkes Auge etwas stärker vorstehend als rechtes, Kopf wird etwas schief gehalten, linkes Auge nach oben gerichtet. Zwei Tage später: Tier mit dem Kopf unter Heu (Schmerzen?), am nächsten Tag ganz unter Heu vergraben, sehr scheu, Pupille sehr weit, wenig Reaktion auf Licht, Auge hart gespannt (Glaukomanfall).

1 Monat nach Behandlungsbeginn: Tier immer noch in der Ecke hinter Heu versteckt. Pupille weit und etwas bläulich, keine Reaktion auf bewegte Gegenstände. Nach einem weiteren Monat: geringe Reaktion auf Licht der Taschenlampe. Bis Ende Dezember (4 Monate nach Versuchsbeginn) blieb das Tier am Tage unter Heu vergraben. Mitte Dezember: im Dunkeln Lidschluß auf Lichtreiz.

Abb. 3. ♀ 5936 Megalocornea. Alter 5 Monate (später Glaukom)

Januar 1960: 2 Junge. Die Häsin war nicht mehr scheu, sondern sorgte für die Jungen, saß auf dem Nest, fraß später mit den Jungen zusammen. März: Prüfung mit Taschenlampe: weite Pupillen, keine Reaktion. Bei der ophthalmologischen Untersuchung durch Herrn Prof. Friemann ergab sich beiderseitiges Glaukom.

Bei ♂ 5857, dem Bruder dieser Häsin, fielen die Augen ebenfalls durch Megalocornea auf. Das Tier zeigte jedoch im Alter von 15 Monaten ebensowenig wie ♀ 5860 abnormes Verhalten oder morphologische Glaukomsymptome. Nach Kreuzung mit ♀ 5745 und ♀ 5860 mußte es wegen Platz- und Futtermangel abgesetzt werden, ohne daß seine Augen wie bei ♀ 5860 mit Atropin behandelt werden konnten. Bei ihm bestand Verdacht auf latentes Glaukom (Abb. 2).

Von den fünf Jungen der Kreuzung 5745 ♀ + 5857 ♂ mußten zwei vorzeitig abgesetzt werden. Das eine hatte eine deutliche Megalocornea, das andere saß gelegentlich an die Wand gedrückt (Alter 5 Monate). Bei den drei anderen, die im Alter von 4 Monaten vorstehende Augen hatten (Megalocornea eindeutig), bestand im Alter von einem Jahr Glaukomverdacht. Nach 4 Wochen Atropinbehandlung (wie bei 5860) zeigten sich bei allen drei Tieren (♀ 5936, ♀ 5937, ♂ 5938) die gleichen Glaukomsymptome (♂ 5938 ophthalmologisch untersucht von Herrn Prof. Friemann). Danach ist wahrscheinlich, daß bei zwei belasteten Elterntieren alle Jungen belastet sind (Abb. 3).

Von den vier Jungen der Kreuzung 5860 ♀ + 5857 ♂ hatten alle mehr oder weniger stark vorstehende Augen. ♀ 5939 (Russe) zeigte im Alter von 1 Jahr noch keine morphologischen Glaukomsymptome, obgleich es öfter an die Wand gedrückt saß. ♂ 5940 mit etwas vorstehenden Augen mußte im Alter von 4 Monaten abgesetzt werden. ♂ 5941 und ♀ 5942 zeigten beide im Alter von $4^1/_2$ Monaten deutliche Megalocornea, aber noch keine anderen Glaukomsymptome (Abb. 4). ♀ 5942 fing im Alter von 8 Monaten an, sich gelegentlich im Heu zu vergraben (lichtscheu). Beim Schließen der Augen ließen die Lider einen Spalt frei. Nach einigen Monaten unauffälligen Benehmens vergrub sich das Tier wieder tagelang tief im Heu, so daß es kaum zu sehen war. Dabei waren die hart gespannten Augen stark vorgewölbt. Es handelte sich offenbar um einen spontanen Glaukomanfall. Nach Umsetzen in einen Stall mit Holztür, hinter der das Tier Lichtschutz hatte, wurde sein Verhalten nach einiger Zeit wieder weniger scheu. Im Alter von 13 Monaten hatte das Tier eindeutig Glaukom (Diagnose Prof. Friemann), das spontan entstanden war. Das Tier wurde abgesetzt. (Augen: Pupille links weiter als rechts, links Descemetrisse deutlich.) ♂ 5941 wurde im Alter von 15 Monaten abgesetzt, ohne weitere Glaukomsymptome gezeigt zu haben, obgleich Glaukom sicher latent vorhanden war.

Abb. 4. ♀ 5942, Alter 5 Monate, Megalocornea, vor Beginn der Glaukomanfälle. (Im Hintergrund ein Tier aus einem normalen, kleinäugigen Stamm)

Bei vermutlich gleicher Belastung mit Glaukomanlagen zeigen die Tiere starke Unterschiede in der Manifestation des Glaukoms — vielleicht nur zeitlich, denn nur, wenn die Tiere mehrere Jahre beobachtet worden wären, könnte mit Sicherheit gesagt werden, ob belastete Tiere auch im höheren Alter frei von morphologischen Glaukomsymptomen bleiben können.

Zur Prüfung des Glaukomgens wurden 1960 und 1961 noch weitere Zuchten angesetzt.

I. Einkreuzung von Glaukomtieren in andere Stämme

1. ♀ 5860 (Glaukom) ♀ + ♂ 5931 aus einer ra-Sippe (Augenalbinismus), bei der noch kein Fall von erblichem Glaukom beobachtet war (sehr entfernt verwandt mit dem Glaukomstamm). Die beiden einzigen Jungen, ♂ 6001 und ♀ 6002 hatten

a

b

Abb. 5. a 6101 und 6102, Alter etwa $2^1/_2$ Monate, homozygot für Glaukomanlage. Megalocornea verschiedenen Grades, später verstärkt. b 6015 und 6016, Alter etwa $2^1/_2$ Monate, heterozygot für Glaukomanlage. Etwas vorgewölbte Augen, die später unauffällig wurden

Abb. 6. ♂ 6001, Alter 1 Jahr. Schwache Glaukomsymptome im Alter von $1^1/_4$ Jahr nach Atropinbehandlung im Alter von 4 Monaten (nur linkes Auge)

zunächst ziemlich große, gewölbte Augen, die bei ♂ 6001 (im Alter von 3 Monaten) jedoch unauffällig wurden, während bei ♀ 6002 in diesem Alter der Verdacht auf Megalocornea bestand (nicht sehr ausgeprägt). Nach 4 Wochen Atropineintropfung (2× wöchentlich linkes Auge) keine Glaukomsymptome bei beiden Tieren, so daß zunächst angenommen werden konnte, daß die heterozygoten Tiere frei von Glaukom wären. ♂ 6001 hatte aber dann im Alter von $1^1/_4$ Jahren ein stärker vorstehendes Auge (Abb. 6). Bei der Augenspiegeluntersuchung (Prof. Friemann) bewies eine abgeblaßte Papille im linken Auge, daß das Tier Glaukom hatte (Auge für histologische Untersuchung fixiert). ♀ 6002 zeigte ebenfalls im Alter von $1^1/_4$ Jahr ein stärker vorstehendes linkes Auge (deutliche Megalocornea). Bei der Augenspiegeluntersuchung (Dr. Pfuhl) konnten jedoch keine weiteren Glaukomzeichen beobachtet werden. Nochmalige Atropinbehandlung des linken Auges (5 Wochen wie oben) bewirkte erneuten Druckanstieg, der zu einer beginnenden Exkavation der Papille im linken Auge führte. Das rechte Auge zeigte dagegen keinerlei Glaukomsymptome. (Kleinere, möglicherweise über den Blutkreislauf in das andere Auge gelangte Atropinspuren haben also nicht zu einer Manifestation ausgereicht.)

2. Die zur obigen reziproke Kreuzung: ♀ 5837 aus der ra-Sippe (Schwester des

Vaters von 5931) + ♂ 5941 (starke Megalocornea, aber noch ohne weitere Glaukomzeichen, sicher Anlageträger) lieferte zwei Junge (♀ 6015 und ♀ 6016), die im Alter von etwa 5—10 Wochen kugelig vorgewölbte Augen hatten ((Abb. 5), später jedoch unauffällig wurden. ♀ 6016 zeigte bei einer Augenspiegeluntersuchung im Alter von 14 Monaten keine Glaukomsymptome und war wie auch ♀ 6015 (noch im Alter von 16 Monaten) äußerlich unauffällig.

Wenn ♂ 5941 homozygot für Glaukom war, müssen beide Jungtiere heterozygot sein wie 6001 und 6002. Letztere waren jedoch mit Atropin behandelt, also einer besonderen Belastung ihrer Augendruckregulierung ausgesetzt. Ob ohne eine solche ein Glaukom bei Heterozygoten noch in höherem Alter entstehen kann, wäre nur nach Aufzucht einer größeren Zahl von heterozygoten Tieren bis ins hohe Alter zu entscheiden.

Aus diesen Beobachtungen muß geschlossen werden, daß ein Glaukom wahrscheinlich auch entstehen kann, wenn nur *eine* Anlage vorhanden ist — allerdings erst sehr spät und möglicherweise nur nach besonderer Belastung. Ob die Manifestation bei jedem Tier möglich ist, oder ob die Kombination mit besonderen anderen Erbanlagen dafür notwendig ist, könnte nur in umfangreichen Zuchten geprüft werden.

II. Zuchten mit zwei heterozygoten Eltern

1. Bei der Geschwisterkreuzung ♂ 6001 + ♀6002 entstanden vier Junge, von denen zwei ganz jung starben. Das eine überlebende zeigte im Alter von über 1 Jahr keinerlei Glaukomzeichen. Das andere, ♂ 6046, hatte im Alter von 9 Monaten normal große, unauffällige Augen. Unter seinen Nachkommen mit ♀ 6002 war jedoch wieder Megalocornea bei Jungtieren (ohne Atropinbelastung) zu beobachten, so daß es sicher heterozygoter Träger einer Glaukomanlage war.

2. Bei der Kreuzung von ♀ 6016 mit ♂ 6001 entstanden vier Junge, von denen drei schon früh deutlich erkennbare Megalocornea zeigten, während ein Tier unauffällig war (dieses und ein anderes im Alter von 4 Monaten eingegangen). Die beiden überlebenden Tiere wurden 5 Wochen lang mit Atropin (linkes Auge) behandelt. Bei beiden Tieren war dadurch der Bulbus hart gespannt, und die Tiere saßen oft an die Wand gedrückt. Das eine Tier (♂ 6103) zeigte danach links eine Exkavation (im rechten Auge nicht), das andere Tier noch nicht. ♂ 6103 hatte schon vor der Behandlung eine noch stärker ausgeprägte Megalocornea gehabt als das andere Tier. Die ophthalmologische Untersuchung (Prof. Friemann) zeigte, daß entsprechend den früher und stärker ausgeprägten äußeren Symptomen auch die Druckschädigungen im inneren Auge schon weiter fortgeschritten waren.

Nach dem frühen Auftreten der Symptome ist anzunehmen, daß die beiden Tiere von beiden Eltern erblich belastet waren, daß also auch ♀ 6016 Anlageträger war.

3. Bei der Kreuzung von ♀ 6015 mit ♂ 6001 entstanden sieben Junge, von denen drei bereits im Alter von unter $2^1/_2$ Monaten starben (nasses Futter), ohne Glaukomsymptome aufzuweisen. Von den überlebenden Tieren saß eins öfters an die Wand gedrückt. Im Alter von 7 Wochen zeigte das Tier nicht nur Megalocornea, sondern ziemlich hart gespannten Bulbus. Zwei weitere Tiere hatten Megalocornea (asymmetrisch). Bei diesen drei Tieren kann homozygote Belastung vermutet werden.

In diesen drei Würfen würden, wenn alle Elterntiere sicher heterozygot wären, unter den Jungen homozygote, heterozygote und unbelastete

Tiere im Verhältnis 1:2:1 zu erwarten sein. Bei den großen Ausfällen an Jungtieren (7 von 15) ist eine zahlenmäßige Auswertung nicht möglich.

III. Reinzucht von Glaukomtieren mit früher Manifestation

1. ♀ 5936 + ♂ 5938 (Geschwister). Die vier Jungen (6024—27) zeigten im Alter von 4—5 Wochen große, kugelige Augen. Zwei Wochen später war die Megalocornea bei allen eindeutig. Bei zwei Tieren wurde darauf eine Atropineintropfung durchgeführt (12mal in 5 Wochen, linkes Auge). Danach wurde bei einem der Tiere eine beginnende Exkavation der Papille, bei dem anderen Descemetrisse festgestellt, während die beiden Kontrolltiere frei von solchen Symptomen waren (Untersuchung Oberarzt Dr. Eggert). Letztere hatten jedoch im Alter von $2^1/_2$ Monaten ziemlich weite Pupillen. Es ist zu vermuten, daß alle vier Tiere homozygot für die Glaukomanlage waren und daß durch Atropin schon im Alter von 3 Monaten solche Druckerhöhung ausgelöst wurde, daß die ersten morphologischen Veränderungen im Innern des Auges erkennbar wurden. Die Tiere mußten abgesetzt werden, ohne daß die Entwicklung von entsprechenden Symptomen bei den unbehandelten Tieren abgewartet werden konnte.

2. ♀ 5937 + ♂ 5938 (Geschwister). Von den sechs Jungen hatten im Alter von 6 Wochen fünf große Augen, eins etwas kleinere. Im Alter von 5 Monaten waren die Augen von allen sechs Tieren (6031—36) sehr groß und stark vorgewölbt (etwa gleich stark ausgeprägte Megalocornea). Von diesen Tieren wurden zwei in 4 Wochen viermal einseitig mit Atropin behandelt, während ein drittes Tier als Kontrolle diente. Alle drei Tiere hatten im Alter von $^1/_2$ Jahr eindeutig Glaukom (Diagnose Prof. Friemann). Dieser Wurf wurde etwas länger beobachtet als der erste. Die Megalocornea war bei allen Tieren im Alter von 5 Monaten stark ausgeprägt. Drei ♂ mußten wegen Platzmangel abgesetzt werden. Es ist anzunehmen, daß alle Tiere dieses Wurfes *zwei* Anlagen für Glaukom besaßen.

Die früh auftretende und sich weiter verstärkende Megalocornea und die frühe Manifestation weiterer Glaukomsymptome ohne und noch deutlicher mit Belastung scheinen für homozygote Glaukomträger charakteristisch zu sein. Wir finden früh ausgeprägte Megalocornea bei allen Jungen aus Würfen von Eltern mit gleichen Symptomen, wie bei „Reinzucht" zu erwarten ist.

IV. Eine Rückkreuzung zur Klärung der Herkunft der Glaukomanlage

Der Vater des ersten beobachteten Glaukomtiers, ♂ 5659 (Russenkaninchen) wurde mit einer Urenkelin ♀ 5939 (gleiche Rasse) gekreuzt. Dieses Tier war von beiden Eltern her belastet, zeigte deutliche Megalocornea, hatte, nach dem Verhalten zu urteilen, einen Glaukomanfall durchgemacht, war jedoch im Alter von 2 Jahren noch ohne eindeutige Glaukomsymptome im Innern des Auges. Es hatte mindestens eine Glaukomanlage, wahrscheinlich aber zwei, die trotz Atropinbehandlung (links) mit anschließendem Glaukomanfall nur einen langsamen, schleichenden Verlauf des Glaukoms bewirkten. Die deutlich eiförmige Pupille im formolfixierten linken (nur wenig angedeutet im rechten) Auge beweist aber, daß auch im Innern des Auges Veränderungen stattgefunden haben.

Drei von den vier Jungen dieses Wurfes zeigten Megalocornea, davon bei einem Tier weniger stark ausgeprägt als bei den beiden anderen. Nach Atropinbehandlung bestand bei zwei Tieren Verdacht auf einen Glaukomanfall, Der Verlauf scheint

wie bei der Mutter protrahiert zu sein. Bei dem einen der Tiere (♀ 6018) besteht im Alter von $1^1/_4$ Jahren der Verdacht auf einen mehrere Wochen dauernden Glaukomanfall (Tier hinter Grashaufen versteckt oder an die Wand gedrückt, linkes Auge groß, Pupille sehr weit). Solches Verhalten haben wir bisher nur bei vermutlich homozygoten Tieren beobachtet.

Danach ist anzunehmen, daß das Tier nicht nur von der Mutter, sondern auch vom Vater eine Glaukomanlage geerbt hat. ♂ 5659 muß, wie erwartet, heterozygot gewesen sein, obgleich es noch im Alter von $3^1/_2$ Jahren unauffällige Augen hatte.

Einige weitere Kreuzungen lieferten keine abweichenden Befunde. Insgesamt wurden 15 Zuchten mit über 60 Nachkommen berücksichtigt. Durch Verluste an Jungtieren durch nasses Futter und durch vorzeitiges Absetzen, vor allem von männlichen Tieren (Platzmangel), ist es nicht möglich, das Gesamtmaterial zahlenmäßig auszuwerten. Es müßten sonst alle Tiere etwa bis zum Alter von 2 Jahren beobachtet werden. Da jede Zucht mit bestimmter Fragestellung angesetzt wurde, genügte es in vielen Fällen, einzelne entscheidende Tiere zurückzubehalten oder alle Tiere eines Wurfs so lange zu beobachten, bis erste sichere Symptome auftraten. Durch Atropinbehandlung war es möglich, einen Teil der homozygoten Anlageträger schon frühzeitig zu erkennen, ohne das Auftreten eines Spontanglaukoms abzuwarten. Vielleicht ist es auch möglich, mit diesem Test heterozygote von erblich unbelasteten Tieren zu unterscheiden, wenn auch mit wesentlich längerer Versuchsdauer. Die große Variationsbreite erschwert die Auswertung der Ergebnisse.

Aus den Beobachtungen ergibt sich, daß das erste Symptom des Glaukoms bei unserem Kaninchenstamm eine *Megalocornea* ist. Unter leichter Erhöhung des Augeninnendruckes scheint sich die noch relativ weiche Cornea des jungen Tieres vorzuwölben, so daß das Auge etwas „vorsteht". Dieses Symptom ist oft schon im Alter von *etwa 4 Wochen* zu erkennen, ist aber nicht bei allen Tieren gleich stark ausgebildet und nicht scharf abzugrenzen gegenüber normalen Tieren, die etwas vorstehende Augen besitzen. Da die Erhöhung des Augendrucks anscheinend zuerst noch nicht sehr stark ist, wird der Bulbus nicht (wie beim Hydrophthalmus) stark vergrößert. Der weitere Druckanstieg erfolgt später, wenn die Augenhüllen nicht mehr so elastisch sind.

Als zweites Symptom kann im Alter von mindestens *4 Monaten* eine mehr oder weniger *weite Pupille* hinzukommen.

Scheues Verhalten der Tiere, die dann an die Wand gedrückt sitzen oder, wenn sie Heu angeboten bekommen, den Kopf oder den ganzen Körper darin vergraben, kann auf einen Glaukomanfall (Schmerzen und Lichtscheu) hinweisen, bei dem als drittes Symptom der *Bulbus hart gespannt* sein kann. (Nur Prüfung mit dem Finger, also ohne Instrument kein *meßbares* Merkmal!) Solches Verhalten konnten wir frühestens im *Alter von 7 Monaten* sicher feststellen (vielleicht schon nach 5 Monaten).

Diese Spontanglaukomanfälle können verschieden lange dauern (nach dem Verhalten der Tiere zu urteilen, die sich bei Schmerzen verstecken und Lichtscheu zeigen). Im *Alter von etwa 1 Jahr* können entsprechende *Schädigungen der Netzhaut* entwickelt sein, die das Sehvermögen der Tiere mehr oder weniger einschränken. Es scheint aber sogar bei weitgehender Zerstörung der Netzhaut noch Randbezirke zu geben, die lichtempfindlich bleiben, auch wenn die *Pupillenreaktion auf Licht* fast völlig *ausfällt* (vgl. Verhalten von ♀ 5745 im Alter von 2 Jahren!).

Die Diagnose ist dadurch schwierig, daß man die Sehfähigkeit der Tiere nicht exakt prüfen kann. Abgrenzbare Gesichtsausfälle, wie sie in der Diagnose des menschlichen Glaukoms wichtig sind, kann man beim Kaninchen nicht feststellen. Man kann nur Schlüsse aus dem Verhalten ziehen. Erst weitgehende Zerstörung der Netzhaut macht sich bei den Tieren äußerlich bemerkbar. Die Messung des Augendrucks, die in der menschlichen Glaukomdiagnose eine entscheidende Rolle spielt, ist beim Kaninchen nicht im einfachen Versuch möglich, so daß man nur durch das grobe Verfahren der Druckprüfung mit dem Finger einen Hinweis erhalten kann.

Hornhauttrübungen kommen bei unseren Tieren selbst in fortgeschrittenen Stadien kaum vor, so daß die Beobachtung des Fundus keine Schwierigkeiten macht. Selbst das fast blinde Tier 5745 hatte nur eine ganz schwache Trübung der lichtbrechenden Medien (Abb. 1).

Durch die Untersuchung mit dem Augenspiegel kann in fraglichen Fällen die Diagnose gesichert werden, wenn *Exkavation oder Abblassung der Papille*, *Veränderungen der Netzhautgefäße* oder *Descemetrisse* feststellbar sind. Für diese fachärztlichen Untersuchungen danke ich Herrn Prof. Dr. Friemann und den Oberärzten seiner Klinik.

Es gibt Tiere mit *Megalocornea*, die im *Alter von über einem Jahr noch keine weiteren Glaukomsymptome* zeigen, obgleich sie latente Glaukomträger sind. Durch *Atropinbehandlung* kann man bei solchen Tieren in 3—4 Wochen einen Glaukomanfall auslösen und damit ihre erbliche Belastung beweisen. Ob unbehandelte Tiere, die homozygote Träger der Glaukomanlage sind, bis ins hohe Alter frei von weiteren morphologischen Glaukomsymptomen bleiben können oder ob durch die Summierung physiologischer Belastungen spätestens in einem bestimmten Alter doch noch Druckschädigungen auftreten, kann nach unseren Beobachtungen noch nicht gesagt werden.

Unter welchen Bedingungen auch ein heterozygoter Träger der Glaukomanlage morphologische Glaukomsymptome im Auge bekommen kann, ist noch nicht zu übersehen. Daß unter starker Belastung (Atropin) die Entwicklung von Glaukomzeichen — allerdings zu einem späteren Zeitpunkt als bei den doppelt belasteten Tieren — bei solchen Tieren möglich ist, zeigen die Befunde bei ♂ 6001.

Diskussion

Nach dem Verlauf und den Symptomen ist das Glaukom in unserem Kaninchenstamm nicht identisch mit einer der von anderen Autoren beschriebenen Formen (vgl. S. 201). Ob es sich um ein neues, früher noch nicht beobachtetes Gen handelt oder ob sich eine pathologische Erbanlage in verschiedenem Gen-Milieu unterschiedlich auswirkt, kann nach der Beobachtung des Verlaufs allein nicht entschieden werden. Zum Vergleich muß auch der Erbgang herangezogen werden. Von allen Autoren wurde autosomal-recessiver Erbgang als sicher oder wahrscheinlich angegeben. Auch bei unserer Glaukomform deuten viele Tatsachen auf recessiven Erbgang hin: Das Tier mit dem ersten manifesten Glaukom stammt aus der Rückkreuzung zweier Tiere mit unauffälligen Augen. Wird ein Glaukomtier mit einem blutsverwandten Tier ohne Glaukom gekreuzt, so können unter den Jungen wieder Glaukomträger sein. Die F_1-Tiere aus Kreuzungen eines Glaukomtiers mit einem normal aussehenden Tier aus einem anderen Stamm können etwas vorstehende Augen haben, bekommen jedoch (auch nach Atropinbelastung) im ersten Jahr kein Glaukom. Aber: eine schwache Manifestation (u. U. einseitig) ist später möglich; ob auch ohne solche Belastung, ist nicht sicher. Zwei Glaukomtiere mit früher Manifestation haben nur Nachkommen mit mehr oder weniger starker Megalocornea. Ein Teil von ihnen entwickelt schon innerhalb des ersten Jahres ein Spontanglaukom, bei anderen kommt es nach vorübergehenden Glaukomanfällen innerhalb der ersten 2 Jahre noch nicht zu morphologisch bleibenden Veränderungen im Augeninnern, obgleich die erbliche Belastung durch beide Eltern als sicher anzusehen ist. Die Variationsbreite ist also auch bei homozygoten Tieren sehr groß. Durch Atropinbehandlung kann der Zeitpunkt der Manifestation vorverlegt werden.

Ob ein Unterschied in der Manifestation bei ♂ und ♀ besteht, kann nach unserem nicht sehr umfangreichen und zugunsten weiblicher Tiere ausgelesenen Material noch nicht gesagt werden. Dem Eindruck nach besteht der Verdacht, daß weibliche Tiere zu früherer Manifestation neigen. Ein Verdacht auf gonosomalen Erbgang liegt bei unserem Glaukomgen ebensowenig vor wie bei den Glaukomformen anderer Autoren.

Die Feststellung, ob die bisher beschriebenen Glaukomformen beim Kaninchen auf verschiedenartige Mutationen zurückzuführen sind, wäre nur durch Kreuzung der verschiedenen Stämme miteinander oder durch eine phänogenetische Analyse zu treffen. Wie viele verschiedene Angriffspunkte es für ein pathologisches Gen geben kann, das in die Regulierung des Augendrucks eingreift, ist in der Einleitung angedeutet. Aber selbst, wenn der Angriffspunkt zweier Gene gleich ist, besteht noch die Möglichkeit multipler Allelie, denn ein Gen kann in verschiedener Weise mutieren, so daß der erreichte phänotypische Effekt verschieden stark sein

kann (vgl. Pigmentfaktorenserie, die zu Chinchilla-, Marder-, Russen- und Albinokaninchen führt).

Wie läßt sich die starke Variabilität in der Manifestation des Glaukoms erklären?

1. Die Tiere sind nicht erbgleich. Es besteht also die Möglichkeit, daß einzelne Tiere *Gene* besitzen, die *verstärkend oder hemmend in die Störung des Augendrucks durch das Glaukomgen eingreifen.* Besonders interessant ist in diesem Zusammenhang die Entdeckung einer erblichen Atropinesterase durch Sawin (1943) bei amerikanischen Kaninchenstämmen. Dieses Enzym, das bei Tieren im Alter von 1—2 Monaten an (noch nicht bei neugeborenen) im Blutserum nachgewiesen werden kann, zerstört Atropin. Heterozygote Träger der Erbanlage produzieren weniger als halb soviel Enzym wie homozygote. Das Gen „As" ist unvollständig dominant. Es wird mit der Möglichkeit gerechnet, daß ♀ eine größere Enzymaktivität besitzen als ♂. Welche physiologische Aufgabe dieses Enzym im Organismus hat, dürfte bis jetzt unbekannt sein. Wenn man sich das Verhalten von Glaukomtieren mit und ohne solche Anlagen in unseren Atropinversuchen vorstellt, wäre schon die Erklärung für verschiedenes Verhalten bei gleicher erblicher Glaukombelastung gegeben. Da wir weder auf Enzym geprüfte Tiere besitzen, noch die Möglichkeit haben, selbst Enzymuntersuchungen an unseren Tieren durchzuführen, kann diese Möglichkeit zunächst nur theoretisch erörtert werden. Das Problem kann jedoch exakt experimentell gelöst werden, sobald praktische Voraussetzungen dafür gegeben sind. Die Frage, ob im Stoffwechsel von Glaukomtieren Substanzen entstehen, die ähnliche Auswirkung auf den Augendruck haben wie Atropin und enzymatisch abgebaut werden können, könnte in diesem Zusammenhang ebenfalls geprüft werden, so daß damit die Bedeutung eines „Neben"-Gens für die Manifestation des Glaukoms analysiert werden könnte. Es besteht die Möglichkeit, daß auch andersartige Gene, die noch nicht bekannt sind, in die Regulierung des Augendrucks eingreifen. Durch genaue Erbanalysen wird es möglich sein, Stämme mit Besonderheiten der Manifestationsform auf das Vorkommen von Zusatzgenen zu prüfen.

Ob es sich bei dem Glaukom unseres Kaninchenstammes um eine morphologische Störung z. B. des Abflußsystems (Schlemmscher Kanal) handelt, soll durch histologische Untersuchungen festgestellt werden. Daß bei Hemmungsmißbildungen auf erblicher Grundlage eine sehr große Variationsbreite besteht, ist bekannt (z. B. Lippen-Kiefer-Gaumenspalte, Spina bifida, Hüftluxation). Mikroformen und einseitiges Auftreten bei normaler anderer Seite zeigen, daß irgendwelche Faktoren fördernd oder hemmend in die genetisch gesteuerten Entwicklungsprozesse eingreifen können.

2. Daß solche Störungen auch ohne pathologische Erbanlagen allein durch Umweltfaktoren in einem bestimmten Zeitpunkt der Entwicklung ausgelöst werden können („Phänokopien"), ist für eine Reihe von „Hemmungsmißbildungen" bereits bewiesen. Wieviel stärker werden die gleichen, unbekannten Faktoren dann auf einen erblich belasteten Organismus einwirken! Es ist also damit zu rechnen, daß der *Zeitpunkt der Glaukommanifestierung* nicht nur durch Erbfaktoren, sondern *auch durch Belastungen von außen beeinflußt* wird. Eine solche Belastung unphysiologischer Art stellt die Eintropfung von Atropin in die Augen dar. Ob auch mit der Nahrung Wirkstoffe zugeführt werden können, die beim labilen Tier auf den Augendruck wirken, ist schwer zu prüfen (z. B. Spuren von irgendwelchen Alkaloiden, die in verschiedenen Pflanzen vorkommen). Solche Faktoren könnten bereits während der Embryonalzeit wirksam werden. Sie können während des ganzen Lebens wirken.

Wenn ein Tier nur mit *einer* Glaukomanlage belastet ist (wie unsere Tiere Nr. 6001, 6002, 6015 und 6016), reichen die physiologischen Belastungen in den ersten 15 Monaten des Lebens offenbar nicht aus, um morphologische Druckveränderungen im Auge hervorzurufen. Bei ♂ 6001 zeigten sich Symptome erst etwa 1 Jahr nach der Atropinbehandlung, während 6002 zu dieser Zeit trotz gleicher Behandlung nur eine Megalocornea hatte und erst nach einer zweiten Atropinbelastung für 5 Wochen gleich anschließend eine Exkavation zeigte. Bei beiden Tieren war das Glaukom auf das behandelte Auge beschränkt. Die beiden unbehandelten Tiere zeigten zu dieser Zeit keine Störung. Wenn die Tiere nicht belastet und nicht weiter beobachtet worden wären, würde diese Glaukomform als einfach recessiv angesehen worden sein.

Daß Licht und Dunkelheit Einfluß auf den Augeninnendruck haben, ist aus der menschlichen Glaukomdiagnostik bekannt. Danach wäre auch beim Kaninchen mit der Möglichkeit zu rechnen, daß sich das Glaukom bei dem „unphysiologischen" Leben im Stall zu einem anderen Zeitpunkt manifestiert als beim Höhlenbewohner der freien Wildbahn.

Hormonale Einflüsse können sich bei männlichen und weiblichen Tieren verschieden auswirken, wenn auch wahrscheinlich nicht unmittelbar. Bei inkretorischen Störungen *kann* der Augendruck beeinflußt werden, wenn auch die Beziehungen z. T. noch ungeklärt sind.

Die Mannigfaltigkeit der Erb- und Umweltfaktoren erschwert eine exakte Erforschung des erblichen Glaukoms außerordentlich.

Vergleichen wir das Glaukom in unserem Kaninchenstamm mit dem Glaukom des Menschen, so zeigt sich eine Ähnlichkeit mit dem Jugend- bzw. Erwachsenenglaukom. Dagegen waren die früher beschriebenen Fälle von Kaninchenglaukom, besonders die von Vogt und Francheschetti viel mehr dem menschlichen Hydrophthalmus entsprechend, bei dem der Augendruck schon sehr früh stark erhöht ist. Bei unseren Tieren

kommen Trübungen der lichtbrechenden Medien selten (und dann in sehr schwacher Form) vor, während in den Stämmen der anderen Autoren starke Hornhauttrübungen z.T. besonders auffielen. Da Kaninchen mit geschlossenen Augen geboren werden (Lider werden frühestens nach 9 Tagen geöffnet), ist über die Augen der neugeborenen Tiere in vivo keine sichere Angabe zu machen. Bei den Stämmen der anderen Autoren scheinen die ersten Symptome aber auch erst aufzutreten, wenn die Tiere einige Wochen oder Monate alt sind. Nach der Ausprägung der Symptome ist aber auf einen raschen und starken Druckanstieg zu schließen.

Im Verlauf zeigt unser Kaninchenstamm bei doppelter Belastung etwa den Verlauf von Glaucoma simplex mit einzelnen Glaukomanfällen, so daß morphologische Drucksymptome mit großer Variationsbreite auftreten, bei einigen Tieren schon relativ früh. Dagegen bleibt die Augendruckerhöhung bei Heterozygoten sehr viel länger kompensiert, vielleicht sogar zeitlebens, wenn keine Belastung erfolgt. Überschneidungen in der zeitlichen Manifestation kommen vor, wenn die Tiere Belastungen ausgesetzt werden.

Megalocornea ist das erste Symptom bei unseren homozygoten Tieren, also bei relativ früher Manifestation. Weitere Symptome können noch im zweiten Lebensjahr fehlen. Hier zeigt sich eine besonders starke Ähnlichkeit mit den Glaukomfamilien von Notz, Trautmann, vom Hofe und Oppel, bei denen Megalocornea und Glaukom nebeneinander vorkommen.

Beim menschlichen Hydrophthalmus wird in der Regel recessiver Erbgang beobachtet, bei einfachem Jugend- und Erwachsenenglaukom dagegen in der Regel dominanter. In einzelnen Arbeiten finden sich Angaben, daß Glaukom sich in einigen Familien recessiv und dominant nebeneinander vererbt.

Wenn unser erbliches Kaninchenglaukom mit einer Form des menschlichen Glaukoms genetisch identisch ist, würden diese Widersprüche zu erklären sein. Homozygote Individuen neigen zu Frühmanifestation, wenn auch mit großer Variationsbreite, heterozygote dagegen bekommen das Glaukom erst im Erwachsenenalter. Je länger der Mensch lebt und je mehr Belastungsfaktoren auf seinen Organismus bzw. indirekt oder direkt auf seine Augen einwirken, desto sicherer wird sich sein Glaukom an beiden oder an einem Auge manifestieren. Da die Species Mensch sehr viel später „erwachsen" wird als die Species Kaninchen und sehr viel länger lebt, besteht für den Menschen eine sehr viel größere Wahrscheinlichkeit, daß sich so viele Reize summieren, daß auch der heterozygote Träger einer Glaukomanlage sein Glaukom bekommt. Die Frühsymptome sind beim Menschen außerdem sicherer und exakter zu erfassen als beim Kaninchen (vgl. S. 210). So wird beim Menschen der

Erbgang leichter als dominant erkannt. Beim Kaninchen dagegen wird nur bei längerer Beobachtungszeit und vielleicht nur unter besonderer Belastung der heterozygote Anlageträger als Merkmalsträger zu erkennen sein. Bei zu kurzer Lebensdauer bekommen die Tiere kein Glaukom, gelten im Stammbaum also als phänotypisch „ohne Befund", so daß der Erbgang fälschlich als recessiv gedeutet wird.

Das Problem der Variationsbreite besteht beim Menschen genauso wie beim Kaninchen, d.h., auch beim Menschen müssen Faktoren vorhanden sein, die die Manifestation des Glaukoms fördern oder hemmen. Das können Erbanlagen („Genmilieu") und Umwelteinflüsse sein. Die Auslösung eines Glaukomanfalls beim erblich belasteten Menschen kann durch Atropin erfolgen. Das legt die Frage nach dem Vorhandensein oder Fehlen von Enzymen nahe, die etwa der Atropin-Esterase bei Kaninchen entsprechen. Die Erforschung erblicher Enzymdefekte beim Menschen steht erst in ihren Anfängen, ist aber heute bereits in der Genetik des Menschen zu einem Spezialgebiet geworden, auf dem exakte Forschung möglich ist, und es wird bei der Frage der Glaukomentstehung sicher noch herangezogen werden müssen. Die mögliche Entstehung von glaukombegünstigenden Substanzen im Stoffwechsel oder der zu geringe Aufbau glaukomhemmender Stoffe nebst Abbau solcher Verbindungen durch Fermente gehören zu den Problemen, die auf diesem Gebiet noch zu lösen sind. Die medikamentöse Behandlung des Glaukoms mit Enzymblockern legt eine Analyse der Augendruckregulation von dieser Seite nahe, auch wenn primär eine morphologische Störung im Abflußsystem festgestellt werden konnte. Der Einfluß vegetativ wirksamer Stoffe auf die Pupillenmuskulatur und damit auf den für den Abfluß wichtigen Kammerwinkel zeigt den Zusammenhang zwischen morphologischen und chemischen Faktoren. Das labile Gleichgewicht, in dem sich der Druck eines im Bau abnormen Auges befindet, wird besonders leicht durch erbliche oder Umweltfaktoren gestört, die in die Druckregulierung eingreifen. Eine Störung, die ein gesundes Auge ohne weiteres kompensiert, kann in einem abnorm veranlagten Auge bereits zu einer Schädigung führen, die nicht mehr rückgängig zu machen ist. Bei Druckerhöhung bestimmten Grades kann das Auge in einen Circulus vitiosus geraten, durch den nach Summierung irreversibler Schäden schließlich Erblindung eintritt.

Wir kennen Vorgänge im menschlichen Organismus, bei denen es auch unter Druck zu lokalen Gewebsschädigungen kommt: Bildung von Hautblasen durch mechanische, thermische und chemische Reize. Als *Modellversuch* könnte folgende Beobachtung dienen: Bei percutaner Einwirkung eines Allergens auf einen sensibilisierten Organismus kann lokal eine Blase entstehen. Durch Gefäßkontraktion in dem gereizten Bezirk (Abriegelung des Reizherdes) kommt es zum Austritt von Flüssigkeit unter die Epidermis. Da der Abfluß gesperrt ist, bleibt das Exsudat an Ort und Stelle, und die oberen Hautschichten werden als Blase abgehoben.

Wirkt der Reiz weiter, so kann unter Druck der Blasenflüssigkeit die nicht mehr normal versorgte Haut absterben und reißen, wodurch Druckentlastung eintritt, die Reizquelle abgestoßen und die Heilung eingeleitet wird.

Ist die Hornhaut jedoch sehr dick und stabil (z. B. Daumenkuppe), so wird die Blase bei steigendem Druck immer größer. An den Rändern der Blase werden weitere Gefäße in Mitleidenschaft gezogen, das Exsudat wird größer, und dadurch kommt es zur Abhebung einer noch ausgedehnteren Hornhautfläche. Durch unspezifische weitere Reize kann der Druck noch weiter steigen. Erst wenn Druckentlastung durch Abfließen des (sterilen) Blaseninhalts eintritt, wird der Circulus vitiosus durchbrochen, und der Prozeß kann abklingen. Die obere Hautschicht ist dabei nekrotisch geworden und wird abgestoßen. In etwas entfernter liegenden Geweben können weniger schwere Schäden entstanden sein. So kann als Zeichen einer Druckschädigung im Nagelbett eine Schnürfurche sichtbar werden. Die atrophische Zone ist jedoch abgegrenzt, und das Gewebe bildet wieder normale Nagelstruktur, wenn der Druck wieder normal geworden ist.

In einem Gewebe, das nicht durch vegetative Nerven versorgt wird, wäre dieser Prozeß, der sich durch Reizung der Gefäßnerven entwickelt hat, nicht entstanden, wie seit langem bekannt ist. Durch rechtzeitige Behandlung mit Antihistaminica wäre wahrscheinlich die Reaktion zu verhindern oder mindestens abzumildern gewesen.

Im Auge liegen die Verhältnisse wesentlich komplizierter. Wenn durch Störung des Gleichgewichts zwischen Zu- und Abfluß eine Druckerhöhung entsteht, ist ein Ausweichen bis zu einem gewissen Grade nur im jugendlichen Auge möglich, denn die Augenhüllen besitzen eine besondere Festigkeit, und die Elastizität von Sklera und Cornea nimmt mit dem Alter ab. Ist maximale Dehnung des Bulbus erreicht, so werden die intraocularen Gefäße, besonders die sehr stark gefährdeten Netzhautgefäße, geschädigt. Dabei kann der Zufluß verstärkt, der Abfluß jedoch durch den erhöhten Druck immer mehr gehemmt werden. Wird der Circulus vitiosus, in den das Auge geraten ist, nicht durch operative Schaffung einer Abflußmöglichkeit oder durch Drucksenkung mit Medikamenten (wie z. B. Cholinesteraseblockern) unterbrochen, so endet der Prozeß im Glaucoma absolutum. Die vegetative Innervierung spielt bei der letzteren Behandlung eine entscheidende Rolle, in erster Linie die der Pupillenmuskulatur (Erweiterung durch Adrenalin und andere Sympathicusreizstoffe oder durch das parasympathicushemmende Atropin, Verengung durch Acetylcholin oder entsprechende Esteraseblocker). Aber auch die Gefäßmuskulatur, die an der Druckregulierung beteiligt ist, kann durch solche Stoffe beeinfluß werden. Osmoregulatorisch wirkende Fermentsysteme können auch von Bedeutung für den Augendruck sein (Behandlungserfolge mit Acetazolamid).

Die Möglichkeit, sowohl mit mechanischer Entlastung wie mit medikamentöser Behandlung einen drucksenkenden Effekt erzielen zu können, ist von Interesse für das Verständnis der Druckregulierung im Glaukomauge. Durch das Vorkommen einer dem menschlichen Glaukom wahrscheinlich entsprechenden erblichen Glaukomform beim Kaninchen ist

es möglich, manche noch offene Frage der Glaukombeeinflussung experimentell zu lösen, auch das wichtige genetische Problem: Gibt es *ein* Grundgen, das eine Bauanomalie im Auge hervorruft (Schlemmscher Kanal?) und dessen verschiedene Manifestation durch andere Gene beeinflußt wird, oder gibt es mehrere Glaukomgene mit verschiedenen phänogenetischen Angriffspunkten?

In diesem Zusammenhang hat der Genetiker auch Interesse an den Fällen von sicher umweltbedingtem „sekundärem Glaukom", das ohne erbliche Belastung mit Glaukomgenen auftritt. Einen solchen einseitig auftretenden Fall konnten wir bei einem schwachsichtigen Kaninchen (ra-Stamm), offenbar infolge einer Augenverletzung, beobachten. Dabei entstand eine starke Hornhauttrübung, die durch drucksenkende Medikamente vorübergehend abzuschwächen war. Das Auge soll noch histologisch untersucht werden, damit morphologische Veränderungen, die für das Glaukom verantwortlich sein könnten, festgestellt werden.

Zusammenfassung

Das beschriebene erbliche Glaukom beim Kaninchen ist bei *homozygoten* Trägern der Erbanlage durch folgende Symptome gekennzeichnet: Megalocornea verschiedenen Grades (kompensierte Drucksteigerung), später Pupillenerweiterung, Hartspannung des Bulbus, morphologische Veränderungen im Augeninnern (Exkavation der Papille), schließlich weitgehende Zerstörung der Netzhaut = Erblindung. Trübungen der lichtbrechenden Medien kommen selten vor und dann nur sehr schwach. Descemetrisse konnten beobachtet werden.

Die Variationsbreite ist sehr groß, sowohl im Manifestationsalter wie in der Stärke der Symptome. Megalocornea ist meist im Alter von etwa 4—8 Wochen festzustellen, morphologische Drucksymptome *im* Auge bei spontaner Entstehung des Glaukoms etwa im Alter von 7—8 Monaten, bei manchen Tieren noch nicht im Alter von $1^1/_4$ Jahr. Durch Atropinbehandlung (3—4 Wochen lang) kann das Glaukom sehr viel früher manifestiert werden (schon im Alter von 3—4 Monaten erste innere Symptome).

Glaukomanfälle von Tagen bis Wochen, erkennbar an dem Verhalten der Tiere, die an die Wand gedrückt sitzen oder sich unter Heu vergraben, können offenbar von Zeiten mit weniger erhöhtem intraocularem Druck abgelöst werden. Nach einem Glaukomanfall sind nicht immer Veränderungen am Augenhintergrund festzustellen.

Bei *heterozygoten* Tieren können die Augen auch im Alter von über $1^1/_4$ Jahr und länger noch ohne Glaukomsymptome sein. Durch Atropinbehandlung kann im betroffenen Auge eine Druckerhöhung mit Megalocornea und Exkavation der Papille ausgelöst werden, aber letztere erst

in höherem Alter und wesentlich schwächer als bei homozygoten Tieren. Ob auch Spontanglaukome (ohne Belastung) entstehen oder ob die Tiere zeitlebens ohne Symptome bleiben können, ist noch nicht zu entscheiden. Mit einer sehr großen Variationsbreite ist zu rechnen.

Der Erbgang kann daher als schwach dominant bzw. bedingt dominant oder als intermediär bezeichnet werden.

Diese Glaukomform weicht sowohl im Erbgang wie im Auftreten der Symptome von den bisher beschriebenen Kaninchenglaukomen ab. Sie zeigt dagegen zahlreiche Parallelen zu bestimmten menschlichen erblichen Glaukomformen, besonders dem Typus von Notz (Vogt), Trautmann, vom Hofe, Oppel, bei dem Megalocornea als Symptom des Glaukoms beobachtet wurde. Diese Megalocornea, die der beim Kaninchenglaukom entspricht, hat nichts zu tun mit der gonosomal-recessiv erblichen Form von Grönholm u. Kayser (vielleicht wäre für diese ein anderer Name wie Makrocornea zu wählen, damit Mißverständnisse vermieden werden).

Die Bedeutung anderer Erbanlagen für die Manifestation des Glaukoms beim Kaninchen (und entsprechend beim Menschen) wird diskutiert, ebenso der Einfluß verschiedener Umweltfaktoren. Beide können Ursachen der großen Variabilität im Erscheinungsbild des erblichen Glaukoms sein. Noch offene Probleme der Glaukomgenetik (*ein* Gen oder mehrere unabhängige Gene, phänogenetische Angriffspunkte der Gene) und die Möglichkeit der Erforschung glaukombeeinflussender Faktoren, die das Glaukom des Menschen und des Kaninchens in gleicher Weise betreffen, werden aufgezeigt.

Herrn Prof. Dr. Friemann, Direktor der Städt. Augenklinik Bremen, und seinen Oberärzten Dr. Eggert und Dr. Pfuhl danke ich für die ophthalmologische Untersuchung der wichtigsten Tiere.

Literatur

Abderhalden, R.: Klinische Enzymologie. Stuttgart: Georg Thieme 1958.

Bauer, K. H., u. W. Bode: Erbpathologie der Stützgewebe. In Handbuch der Erbbiologie des Menschen, Bd. III, S. 164. Berlin: Springer 1940.

Brons, H.: Über die Vererbung des Hydrophthalmus congenitus. Diss. Tübingen 1937.

Engelking, E.: Grundriß der Augenheilkunde, begr. von F. Schiek, 13. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Franceschetti, A.: Die Vererbung von Augenleiden. In Schiek-Brückner: Kurzes Handbuch der Ophthalmologie, Bd. I. Berlin: Springer 1930.

Friede, R.: Die Megalocornea congenita, eine phylogenetische Entwicklungsanomalie. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **148**, 716—774 (1948).

Glees, M., u. A. Ried: Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **142**, 495—502 (1940). Zit. bei Leydhecker.

Gärtner, J.: Beitrag zur Pathogenese und Therapie des Glaukoms beim Marchesani-Syndrom. Klin. Mbl. Augenheilk. **133**, 31—39 (1958).

Grönholm, V.: Über die Vererbung der Megalokornea nebst einem Beitrag zur Frage des genetischen Zusammenhanges zwischen Megalokornea und Hydrophthalmus. Klin. Mbl. Augenheilk. **67**, 1—15 (1921).

Hofe, K. vom: Über die Anomalie der Hornhautgröße und ihre Beziehung zum Buphthalmus bzw. Glaukom. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **151**, 327—331 (1951) und Klin. Mbl. Augenheilk. **104**, 278—286 (1940).

Jaensch, P. A.: Einführung in die Augenheilkunde, 2. Aufl. Stuttgart: Georg Thieme 1953.

Leydhecker, W.: Glaukom. Handbuch. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Löhlein, W.: Glaukom als Erbleiden. In Handbuch der Erbkrankheiten, Bd. 5. 1938.

Magnussen, K.: a) Beitrag zur Genetik eines isolierten Augenalbinismus beim Kaninchen. Z. Morph. Anthrop. **46**, 24—29 (1954). b) Erblicher isolierter Augenalbinismus mit Nystagmus und Kopfpendeln beim Kaninchen im Vergleich mit den entsprechenden Anomalien beim Menschen. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **161**, 502—518 (1960).

Nachtsheim, H.: a) Erbpathologie des Kaninchens. Erbarzt **4**, 25—30, 50—55 (1937). b) Erbpathologische Untersuchungen am Kaninchen. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **73**, 463—466 (1937). c) Die Erbanlagen des Säugetierauges. In Handbuch der Erbbiologie des Menschen, Bd. III, S. 562. Berlin: Springer 1940.

Oppel, O.: Zur Frage der Beziehungen zwischen Makro-(Megalo-)kornea und Buphthalmus. Klin. Mbl. Augenheilk. **131**, 819—823 (1957).

Poos, Fr.: Die kausale Genese des genuinen (prim.) Glaukoms. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **151**, 71—115 (1951).

Robinson, R.: Genetic studies of the rabbit. Haag-Gravenhage: Nijhoff 1958.

Sawin, B. P., and Glick: Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **29**, 55—59 (1943). Ref. bei Robinson.

Seefelder, R.: Die Mißbildungen des menschlichen Auges. In Schieck-Brückner: Kurzes Handbuch der Ophthalmologie, S. 592. Berlin: Springer 1930.

Steindorff, K.: Deskriptive, Anatomie des Auges. Tabulae biolog. Den Haag 1948.

Stock, W.: Makrokornea. In Handbuch der Erbkrankheiten, Bd. 5, S. 67. 1938.

Trautmann, I.: Beitrag zur Megalokornea-Buphthalmusfrage. Klin. Mbl. Augenheilk. **121**, 539—543 (1952).

Vogt, A.: a) Vererbter Hydrophthalmus beim Kaninchen. Klin. Mbl. Augenheilk. **63**, 233 (1919). b) Vererbter Hydrophthalmus beim Kaninchen. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **26**, 312 (1921). c) Erbliche Megalocornea und Glaukom. Klin. Mbl. Augenheilk. **90**, 841 (1933). d) Refraktion und Linsenbeschaffenheit bei mongoloider Idiotie. Beziehung der Gehirnausbildung zur Refraktion des Auges. Klin. Mbl. Augenheilk. **90**, 843 (1933).

— H. Wagner u. H. Schläpfer: Erbbiologie und Erbpathologie des menschlichen Auges. In Handbuch der Erbbiologie des Menschen, Bd. III, S. 593ff. Berlin: Springer 1940.

Dr. Karin Magnussen, Bremen, Hagenauer Str. 7

v. Graefes Archiv für Ophthalmologie 164, 220—230 (1961)

Aus dem Institut für Pathologie der Medizinischen Akademie Magdeburg
(Gustav-Ricker-Krankenhaus), Neuropathologische Abteilung
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. H. Essbach)

Ein histochemischer Beitrag zur Metallablagerung im Kayser-Fleischerschen Cornealring*

Von

R. Schnabel und G. Nisch

Mit 2 Textabbildungen

I. Einleitung

Der grünlich-braune Pigmentring der Cornea gehört neben den Hirnveränderungen und der grobknotigen Lebercirrhose zum Vollbild der hepato-cerebralen Degeneration. Über die stoffliche Natur des Cornealringes gingen die Meinungen seit den Erstbeschreibungen durch Kayser (1902) und Fleischer (1903) stark auseinander. (Ausführliche Literatur bei Eicke 1957 und Volland und Pribilla 1957a, b.) Die feingranulären Ablagerungen in der limbusnahen Descemetschen Membran wurden für Hämoglobinabkömmlinge (Fleischer 1922), Urobilin (Kubik 1922, Hessberg 1925, Jess 1927) oder auch autochthones Abnutzungspigment (Kubik 1930) gehalten. Rumpel (1913) und besonders Vogt (1929, 1930a, b) sprachen sich für Silber aus. Immer wieder erwähnt wurde in den Mitteilungen ein erhöhter Kupfergehalt der Organe, besonders der Leber, aber auch des Bulbus (Rumpel 1913, Vogt 1929). Bereits 1922 machte Jess auf die Ähnlichkeit des Cornealringes bei der Wilsonschen Krankheit und der Chalcosis nach Kupfersplitterverletzung des Auges aufmerksam. Siemering und Oloff (1922) sowie Vogt (1929) beobachteten außerdem eine Sonnenblumenkatarakt. Quantitative Untersuchungen durch Haurowitz (1930) ergaben in der Leber und im Gehirn einen erhöhten Kupfergehalt, bei normaler Silbermenge. Diese Befunde wurden in neuerer Zeit von Cumings (1948), Chalmers, Iber und Uzman (1957) bestätigt. Bemerkenswert war die Mitteilung von Butt u. Mitarb. (1958) über die vermehrte Ablagerung von Kupfer und Silber in den gleichen Organen. Zum Pigment des Cornealringes nahmen die Autoren jedoch nicht Stellung. Gerlach und Rohrschneider wiesen 1934 durch Spektralanalysen in der Cornea eines Wilson-Falles Kupfer nach und betonten, daß der Kayser-Fleischersche Cornealring silberfrei sei[1].

* Auszugsweise vorgetragen auf der Tagung der Wissenschaftlichen Gesellschaft für Augenheilkunde an den Universitäten Rostock, Greifswald und der Medizinischen Akademie Magdeburg vom 9.—11. 6. 61 in Rostock.

[1] Diese Befunde wurden kurz darauf von Fleischer und Gerlach (1934) an zwei weiteren Fällen bestätigt.

Der histochemische Kupfernachweis im Cornealring bei Wilsonscher Krankheit wurde erstmals durch Brand und Takáts (1951) geführt. Inzwischen teilten Uzman und Jakus (1957) und Howell (1959) weitere histochemische Befunde mit, die das Pigment des Cornealringes gleichfalls als *Kupfer* kennzeichneten. Nun äußerten Cagianut und Theiler in zwei 1956 und 1960 in diesem Archiv erschienenen Arbeiten erneut die Ansicht, daß das Pigment des Kayser-Fleischerschen Cornealringes vornehmlich aus *Silber* bestünde und knüpften damit an die früheren Untersuchungen von Vogt (1929, 1930a) an. Auch in den jüngsten von Eicke (1957) und Volland und Pribilla (1957b) stammenden Handbuchbeiträgen wurde die Frage nach der Art der Metallablagerungen im Cornealring nicht endgültig entschieden.

Eine eigene pathologisch-anatomisch gesicherte Beobachtung von hepato-cerebraler Degeneration (Wilson) gab uns daher die Gelegenheit, zu den soeben aufgezeigten Problemen über die stoffliche Natur des Cornealpigments Stellung zu nehmen. Unsere histochemischen Befunde stützten sich auf ausgedehnte Vergleichsuntersuchungen über die Spezifität und Leistungsbreite der gängigen histochemischen Schwermetallnachweise. Hierfür wurden Obduktionsfälle mit generalisierter Argyrose und lokalisierter Hämosiderose, Tierexperimente sowie Reagensglas- und Papierstreifen-Teste herangezogen. Ferner schien es uns wünschenswert, einige, gegenüber den Mitteilungen des Schrifttums abweichende Befunde von Theiler und Cagianut (1960), die die Löslichkeit von Kupferkomplexen in Kaliumcyanid betreffen, erneut zu überprüfen. Schließlich untersuchten wir die Frage, inwieweit mittels histochemischer Methodik Cupro- und Cupri-Verbindungen unterscheidbar sind.

II. Material und Methodik

Bulbus und Leber eines Falles von hepato-cerebraler Degeneration

(Su 750/60), 23 Jahre alter Mann, Demenz, grobschlägiger Ruhetremor, Dysarthrie, extrapyramidalmotorische Störungen, unkoordinierte Schwankungen mit Fallneigung. Pathologisch-anatomisch: Grobknotige Lebercirrhose, Kayser-Fleischerscher Cornealring, im Gehirn Status spongiosus, fixer Fettkörnchenzellabbau, reichliche Alzheimer-II-Glia.

Kontrollmaterial

1. Plexus chorioideus einer generalisierten Argyrose (Su 636/58) (jahrelange vom Patienten ohne ärztliche Kontrolle durchgeführte Targesin-Rollkur).
2. Hämosiderose des Plexusepithels bei Haematocephalus internus (Su 110/61).
3. Kupfer- bzw. Silberablagerungen im Tierexperiment.

a) Bei Albino-Ratten einmalige intramuskuläre Injektion von 1 ml einer 0,5%igen Kupferacetat-Lösung.

b) Jeweils drei Mäuse bekamen in 3 Monaten 1000 ml einer 0,02%igen $AgNO_3$-Lösung bzw. einer 0,3%igen Targesin-Lösung zu trinken.

4. Lebergewebsstückchen (Sektionsmaterial) wurde 2 Wochen lang mit 15%iger Kupfersulfat- oder Silbernitrat-Lösung fixiert.

5. Reagensglasversuche.

6. Papierstreifen-Teste. Filtrierpapierstreifen, getränkt mit n/1 Lösungen von Kupfer(I)-jodid, Kupfer(II)-acetat, Kupfer(II)-sulfat, Silbernitrat, Ferrochlorid und Ferrichlorid wurden nach dem Trocknen mit den Stammreagentien von Dimethylaminobenzylidenrhodanin, Rubeanwasserstoffsäure und mit 0,2%iger alkoholischer Diäthyldithiocarbaminat-Lösung zusammengebracht.

Histochemische Methoden[1]

1. *p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin* (Okamoto und Utamura nach Romeis 1948). Erfassungsgrenze[2]: 3×10^{-7}.

5 ml gesättigte alkoholische Lösung auf 100 ml Aq. dest. Färbedauer 24 bis 36 Std bei 38° C.

Reagens nicht spezifisch. Mit Kupfer in neutralem Milieu rötlich-brauner, mit Silber rötlich-violetter Komplex.

2. *Rubeanwasserstoffsäure* (Dithiooxamid), (Okamoto und Utamura nach Romeis 1948). Erfassungsgrenze[2]: 10^{-6}.

5 ml einer 0,1%igen Lösung in 70%igem Alkohol und 10 g Natriumacetat oder 3 ml 1%iges Ammoniak (Gedigk und Pioch 1956) auf 100 ml Aq. dest.

Färbedauer 24—36 Std bei 38° C.

Komplexverbindung mit Kupfer grünlich-schwarz, mit Silber schwarz-braun.

3. *Natriumdiäthyldithiocarbaminat* (Waterhouse 1945).

Es ist mit einer Erfassungsgrenze[2] von 2×10^{-8} das empfindlichste der von uns verwandten Kupfernachweismittel[3]. Frisch bereitete, filtrierte 5%ige wäßrige Lösung oder 0,2%ige Lösung in 70%igem Alkohol. Reaktionsdauer 5—10 sec. Mit Kupfer und Eisen gelblich-braune Komplexverbindungen.

Formalinfixierte Paraffinschnitte, 10 μ, Einschluß in Sorbitsyrup (Karion „Merck"), bei dem im Gegensatz zu Xylol, Äthanol und Balsam die Farbkomplexe gut erhalten bleiben.

An formolfixierten Gefrierschnitten des Falles von hepato-cerebraler Degeneration brachten alle angewandten Kupfernachweismethoden auch nach 24stündiger Alkoholbehandlung (18°) kein positives Ergebnis.

III. Befunde

In der Tabelle 1 sind die Ergebnisse des Papierstreifen-Tests zusammengestellt worden. — Die allgemeinen histologischen Befunde am Cornealring unseres Wilson-Falles entsprachen den Beschreibungen von Vogt (1929), Brand und Takáts (1951), Uzman und Jakus (1957) und Howell (1959).

Mit *p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin* ließen sich in der Descemetschen Membran rötlich-braune Granula darstellen. Die benachbarten Schichten der Substantia propria waren gelblich-rot getönt (Diffusionsartefact?), enthielten jedoch keine Körnchen. Gehemmt wurde die

[1] Der Fa. E. Merck, Darmstadt, sei an dieser Stelle für die Überlassung einiger Substanzen besonders gedankt.

[2] Nach Howell (1959).

[3] Noch höher soll die Empfindlichkeit eines neueren Kupferreagens, des bis-Cyclohexanon-oxalyldihydrazon, sein (Peterson und Bollier 1955).

Komplexbildung durch Zusatz von 3 ml einer n-Salpetersäure. Unsere Ergebnisse an den Leberschnitten stimmten mit denen von Uzman (1957) und Howell (1959) überein. Spuren einer Komplexbildung ließen sich jedoch auch an den Präparaten nachweisen, die in angesäuerte Rhodaninlösung eingestellt waren.

Tabelle 1

Reagens	Testsubstanz			
	$Cu^{II} SO_4$ $Cu^{II} (CH_3 COO)_2$*	$Cu^{I} J$	$Ag NO_3$	$FeCl_2$, $FeCl_3$
Na-Diäthyldithiocarbaminat	braun	braun	keine Reaktion	schwarzbraun
Rubeanwasserstoffsäure	schwarzgrün	graugrün	schwarzbraun	keine Reaktion
p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin	rotbraun	rotbraun	rotviolett	keine Reaktion
p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin + Salpetersäure	schwach rotbraun	schwach rotbraun	rotviolett (abgeschwächt)	keine Reaktion

* Bei Kupferacetat fallen die Testreaktionen stärker aus als bei Kupfersulfat.

Die mit *Rubeanwasserstoffsäure* behandelten Schnitte zeigten an der für den Cornealring typischen Stelle dunkle Granula unterschiedlicher Größe (Abb. 1, 2). Bei den kleineren neigte der Farbton nach grün, bei den größeren nach schwarz-grau. Die Substantia propria blieb frei. In den Parenchymzellen der Leber des Wilson-Falles hatten sich grünlich-schwarze Farbkomplexe perinucleär oder in der Umgebung der Gallecapillaren gebildet. Die Gegenfärbung mit Carmalaun beeinträchtigte ihre Prägnanz erheblich. Die Schnitte lösten sich leicht von den Objektträgern, wenn nach dem Vorschlag von Gedigk und Pioch (1956) das Natriumacetat durch Ammoniak ersetzt wurde. Die von Uzman (1956) angegebene Modifikation der Rubeanwasserstoffsäure-Methode brachte in unseren Fällen keine bessere Ausbeute.

Sowohl im Bereich des Cornealringes als auch in den peripheren Anteilen einzelner Leberläppchen bildeten sich fast augenblicklich nach dem Eintauchen der entparaffinierten Schnitte in *Natriumdiäthyldithiocarbaminat*-Lösung gelblich-braune unterschiedlich große Körnchen. Die Lokalisation entsprach der bei der Rubeanwasserstoffmethode beschriebenen. Nach unserer Erfahrung ergab die wäßrige 5%ige Carbaminatlösung klarere Bilder als die alkoholische. Im Gegensatz zu Green (1954) fiel die leichte Löslichkeit der Körnchen sowohl im wäßrigen als auch im alkoholischen Milieu auf. Dabei nahm die leicht opalescente Carbaminatlösung einen zarten lindgrünen Farbton an. Die besten Ergebnisse erzielten wir bei einer Reaktionsdauer von nur

5—10 sec. Blieben die Schnitte länger als $^1/_2$ Std in der Lösung, war die Reaktion am Cornealring kaum noch nachweisbar.

Der histochemische Kupfernachweis mit Natriumdiäthyldithiocarbaminat ist gleichfalls nicht spezifisch. Auch Eisen bildete mit dem Reagens gelb-braune Komplexe. Die Entstehung von Eisencarbaminat wurde gehemmt, wenn die Schnitte vor der Reaktion 1—3 Std in eine 5%ige Natriumpyrophosphatlösung eingestellt waren. Die Eigenfarbe des Hämosiderins ließ sich dadurch jedoch nicht auslöschen.

Abb. 1. Vorderer Bulbusabschnitt mit Kayser-Fleischerschem Cornealring. Stark positive Reaktion in dem limbusnahen Teil der Descemetschen Membran. Rubeanwasserstoffsäure-Methode nach Okamoto und Utamura. Formalin, Paraffinschnitt, Einschluß in Karion „Merck", Vergr. 30fach

Gegenüber Xylol zeigten sich bei allen drei Methoden die Farbkomplexe nicht beständig. Eindeckung in Balsam ist daher ungeeignet. Sehr gut haltbar dagegen waren die Farben im wasserlöslichen Karion „Merck" (s. Schnabel 1958). Im Gegensatz zu Fleischer (1922) erzielten wir mit keiner der drei genannten histochemischen Schwermetallnachweise eine positive Reaktion an der Lamina basialis (Bruchsche Membran).

Folgende Befunde erbrachten die Reaktionen am Kontrollmaterial: Sieben Tage nach intramuskulärer Kupferacetatinjektion zeigten das Peri- und Endomysium feingranuläre, die Randzonen der Muskulatur diffuse Kupferimprägnationen. Die Farbreaktionen fielen mit p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin rotbraun, mit Rubeanwasserstoffsäure graugrün bis schwarzgrün und mit Natriumdiäthyldithiocarbaminat gelbbraun bis dunkelbraun aus. Die in Kupfersulfatlösung fixierten Organstücke gaben in diffuser Form die gleichen Farbwerte. Beim p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin ließ sich durch Ansäuern mit Salpetersäure eine Komplexbildung nicht vollständig unterdrücken.

Im Fall der Plexusargyrose lag das Silber besonders in der subepithelialen Bindegewebsschicht und auch im übrigen Stroma. Bei der experimentellen Argyrose der Maus fanden wir es in der Wand intrahepatischer Äste der V. portae und in mesenterialen Lymphknoten. Schon im ungefärbten Schnitt stellte es sich als schwarze Ablagerung dar. Nur dort, wo die Silberdeposition spärlich war, konnten die kennzeichnenden Farbtöne beobachtet werden: bei p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin braunrot, stellenweise violettrot, bei Rubeanwasserstoffsäure schwarzbraun. Gleichermaßen reagierten die in Silbernitratlösung fixierten Organstücke. Mit Natriumdiäthyldithiocarbaminat war keine eindeutige Farbkomplexbildung zustandegekommen.

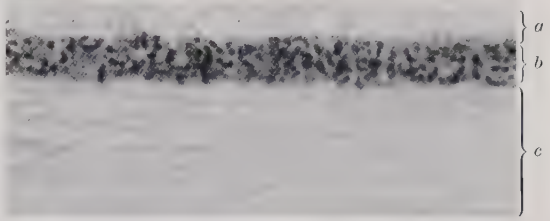


Abb. 2. Kayser-Fleischerscher Cornealring (Ausschnitt). *a* Hornhautendothel, *b* Descemetsche Membran mit stark positiver Reaktion der granulären Pigment-Einlagerungen, *c* Substantia propria. Rubeanwasserstoffsäure-Methode nach Okamoto und Utamura. Formalin, Paraffinschnitt, Einschluß in Karion „Merck", Vergr. 400fach

An Kontrollschnitten der untersuchten Materialien, die 15 min lang einer 5%igen KCN-Lösung ausgesetzt waren und nach gründlichem Spülen mit den Reagentien zusammengebracht wurden, ließen sich auch in den Kupferpräparaten keine Farbreaktionen beobachten. Eine Ausnahme machte dabei die Leber bei hepato-cerebraler Degeneration. An den Stellen, die ohne vorausgegangene Alkalicyanidbehandlung eine kräftige Reaktion zeigten, waren sowohl mit p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin als auch mit Rubeanwasserstoffsäure und Natriumdiäthyldithiocarbaminat noch Spuren von Farbkomplexen erkennbar. Nach zweistündiger Einwirkung des KCN blieb jedoch auch hier die Reaktion aus. Hämosiderin löste sich in KCN nicht. — Eine befriedigende Unterscheidung zwischen anorganischen Cupro- und Cupriverbindungen gelang in vitro nicht (vgl. Tabelle 1). Im Hinblick auf die Ausführungen von Pearse (1960, S. 699, 700) möchten wir jedoch betonen, daß sowohl an den Pigmentgranula des Cornealringes wie bei den Cupri-Salzablagerungen im Tierexperiment mit p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin einwandfreie Farbreaktionen erzielt wurden.

IV. Besprechung

Sowohl in der Cornea als auch in der Leber des von uns untersuchten Falles von hepato-cerebraler Degeneration fielen die Reaktionen mit Natriumdiäthyldithiocarbaminat, Rubeanwasserstoffsäure und p-Di-

methylaminobenzylidenrhodanin positiv aus (Tabelle 2). Keine dieser Methoden ist jedoch für Kupfer spezifisch. Es interferieren bei Natriumdiäthyldithiocarbaminat Eisen, Kobalt, Nickel, Wismut (Peterson und Bollier 1955), bei Rubeanwasserstoffsäure Silber, Quecksilber, Nickel, Kobalt[1] und bei p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin Silber, Quecksilber, Gold und einige andere Schwermetalle.

Tabelle 2. *Topohistochemische Befunde am Pigment des Kayser-Fleischerschen Cornealringes und des Leberparenchyms*

Na-Diäthyldithiocarbaminat	+	gelbbraun
Rubeanwasserstoffsäure (Dithiooxamid)	+	schwarzgrün
p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin	+	rotbraun
p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin + Salpetersäure	—	—
Turnbullblau-Reaktion*	—	—

* Nur spärliche celluläre Eisenablagerungen im Leberbindegewebe.

Die Befunde an kupferhaltigen Kontrollschnitten zeigten, daß bei Zusatz von 3 ml n/1 Salpetersäure zu 100 ml Rhodaninlösung die Bildung gefärbter Kupferkomplexe zwar herabgesetzt, jedoch nicht völlig unterbunden wurde. Eine Ausnahme machte dabei das Corneal- und Leberpigment des Wilson-Falles, welches in saurem Milieu keine gefärbten Verbindungen ergab. Bei silberhaltigem Material war in Gegenwart von Salpetersäure die Neigung zur Komplexbildung aber ebenfalls gehemmt. Durch Ansäuern vermag man also bei dieser Methode Kupfer und Silber nicht immer genügend zu trennen. Nachteilig waren zudem Diffusionsartefacte.

Die eindeutige Unterscheidung zwischen Kupfer und Silber gelingt mit Rubeanwasserstoffsäure nicht, weil die Farbe des Kupferrubeanats mit zunehmender Korngröße zwischen grün-schwarz und schwarz-grau schwankt und dem schwarz-braunen Silberrubeanat sehr nahe kommt. Vorteilhaft ist die prägnante Lokalisationsmöglichkeit der abgelagerten Schwermetalle (Abb. 2). Kobalt und Nickel können mittels Natriumacetat in alkoholischer Lösung ausgeschlossen werden, weil in diesem Milieu die entsprechenden Rubeanate löslich sind.

Das Natriumdiäthyldithiocarbaminat ist gegenüber Kupfer in hohem Maße spezifisch, wofern das Eisen — es ist praktisch das wichtigste der interferierenden Metalle — etwa durch die Turnbullblau- oder Berliner-Blau-Reaktion ausgeschlossen wird. Nachteilig ist allerdings die geringere Farbintensität des Kupfercarbaminats.

[1] In der Regel erzeugt Rubeanwasserstoffsäure mit Cu schwarzgrüne, mit Ag und Hg schwarzbraune, mit Ni malvenfarbene und mit Co gelbbraune Komplexe.

Obwohl bereits Kubik (1930), Gerlach und Rohrschneider (1934) und kürzlich Gedigk und Pioch (1956) betonten, daß nicht nur Silber- sondern auch Kupfer-Eiweißverbindungen in Kaliumcyanid löslich sind, stützten Theiler und Cagianut (1960) ihre Ansicht, der Kayser-Fleischersche Cornealring bestehe aus Silber, mit auf dessen Verhalten gegenüber Kaliumcyanid. Unsere Untersuchungen an experimentellen Kupferablagerungen zeigten, daß bei genügend langer Einwirkung des Alkalicyanids auch Kupfer-Eiweißverbindungen gelöst werden und sich dem histochemischen Nachweis entziehen. Die Löslichkeit des Cornealpigments in 5%iger Kaliumcyanidlösung widerlegt nach unserer Meinung nicht, daß diese Ablagerungen aus Kupfer bestehen. Sie ist auch kein hinreichender Beweis für Silber. Auf Grund unserer Befunde sind wir der Ansicht, daß es sich bei den Schwermetallablagerungen bei hepatocerebraler Degeneration sowohl in der Leber als auch in der Descemetschen Membran um Kupfer handelt. Besonderen Wert legen wir dabei auf den positiven Ausfall der Natriumdiäthyldithiocarbaminat-Reaktion.

Holmberg und Laurell (1948) isolierten aus der α_2-Globulinfraktion des Serums einen Eiweißkörper mit Polyphenoloxydase-Aktivität, der acht Kupferatome in komplexer Bindung enthält. Sie nannten ihn Coeruloplasmin. Scheinberg und Gitlin (1952), Bearn und Kunkel (1954) fanden es bei Wilsonscher Krankheit stark vermindert und rückten dieses Coeruloplasmin in den Mittelpunkt der pathogenetischen Betrachtung der Kupfer- und Eiweißstoffwechselstörung.

Jüngst haben Richterich, Gautier, Stillhard und Rossi (1960) die immer noch lückenhaften Kenntnisse über die Wilsonsche Krankheit wesentlich erweitert. Danach soll durch einen recessiv vererbbaren enzymatischen Defekt der Übergang des Coeruloplasminogen in das Coeruloplasmin unterbunden sein. Das bereits kupferhaltige Coeruloplasminogen sei dem von Uzman (1957) an bioptischem Material gefundenen irregulären Eiweiß, der „Fraction X" gleichzusetzen, die auch in der Descemetschen Membran vorliege. Zu betonen ist, daß nach Uzmans (1957) Befunden der Kayser-Fleischersche Cornealring schon vor einer manifesten Kupferablagerung in der Leber auftreten kann.

Solange bei der hepato-cerebralen Degeneration das Hauptaugenmerk den Kupferablagerungen in der Leber und im Gehirn zugewandt war (Erdmann-Müller und Hornbostel 1953, Waldenstroem 1957, Heilmeyer 1957), wurde versucht, durch BAL-Medikation (Denny-Brown und Porter 1951) das Leiden zu beeinflussen. Die Erfolge waren trotz der Ausschwemmung großer Kupfermengen und der Rückbildung des Cornealringes nur vorübergehend. Neuerdings wird eine gleichzeitige Coeruloplasminsubstitution (Bickel u. Mitarb. 1957) in Verbindung mit kupferarmer Diät (Lange 1958) empfohlen.

Zusammenfassung

Das Auge und die Leber eines typischen Falles von Wilsonscher hepato-cerebraler Degeneration wurden histotopochemisch untersucht. Die Pigmentgranula des Kayser-Fleischerschen Cornealringes und des Leberparenchyms ergaben übereinstimmend mit Natriumdiäthyldithiocarbaminat eine gelbbraune, mit Rubeanwasserstoffsäure eine schwarzgrüne und mit p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin eine rotbraune positive Reaktion. Gänzlich negativ blieben die übrigen Bulbusabschnitte, einschließlich der Lamina basalis (Bruchsche Membran). Ausgedehnte in-vitro-Versuche, Tierexperimente und Untersuchungen an Sektionsfällen mit bekannten Schwermetall-Depositionen (Argyrose, Hämosiderose) berechtigten zu dem Schluß, daß das Pigment des Kayser-Fleischerschen Cornealringes und der Leber eine Kupferverbindung darstellt. Hierfür sprach auch der negative Reaktionsausfall mit der salpetersauren p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin-Lösung. Eine sichere histochemische Differenzierung zwischen Cupro- und Cupriverbindungen gelang nicht. Die Lösbarkeit in Kaliumcyanid kann nicht als hinlänglicher Beweis gegen die Kupfernatur des Cornealpigments gelten. Für die Beteiligung von Silber lag histochemisch kein Anhalt vor.

Literatur

Bearn, A. G., and H. G. Kunkel: Localization of Cu^{64} in serum fractions following oral administration: An alteration in Wilson's disease. Proc. Soc. exp. Biol (N.Y.) **85**, 44—48 (1954).

Bickel, H., H. E. Schultze, W. Grüter u. I. Göllner: Versuche zur Coeruloplasminsubstitution bei der hepatocerebralen Degeneration (Wilsonsche Krankheit). Klin. Wschr. **34**, 961—968 (1956).

Brand, I., u. I. Takáts: Histochemische Untersuchung des Kayser-Fleischerschen Hornhautringes. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **151**, 391—398 (1951).

Butt, E. M., R. E. Nusbaum, T. C. Gilmour and S. L. Di Dio: Copper storage diseases, with consideration of juvenile cirrhosis, Wilson's disease, and hepatic copper of the newborn. Amer. J. clin. Path. **30**, 479—497 (1958).

Cagianut, B., u. K. Theiler: Zur Kenntnis des Kayser-Fleischerschen Cornealringes. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **157**, 302—312 (1956).

Chalmers, Th. C., F. L. Iber and L. L. Uzman: Hepatolenticular degeneration (Wilson's disease) as a form of idiopathic cirrhosis. New Engl. J. Med. **256**, 235—242 (1957).

Cumings, J. N.: Neurochemistry and neurochemists. J. clin. Path. **12**, 6, 489—497 (1959).

Denny-Brown, D., and H. Porter: The effect of BAL (2,3-dimercaptopropanol) on hepato-lenticular degeneration (Wilson's disease). New Engl. J. Med. **245**, 917 (1951). Nach Heilmeyer 1957.

Eicke, W.-J.: Wilsonsche Krankheit — Pseudosklerose. In Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Bd. XIII/1A, S. 851—899. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957.

Erdmann-Müller, G. J., u. H. Hornbostel: Über BAL-Behandlung und Kupferausscheidung beim hepatolenticulären Syndrom. Klin. Wschr. **1953**, 1102—1103.

Fleischer, B.: Zwei weitere Fälle von grünlicher Verfärbung der Cornea. Klin. Mbl. Augenheilk. **1**, 489—491 (1903).
— Über den Hämosiderinring im Hornhautepithel bei Keratokonus und über den Pigmentring in der Descemetschen Membran bei Pseudosklerose und Wilsonscher Krankheit. Klin. Mbl. Augenheilk. **68**, 41—50 (1922).
—, u. W. Gerlach: Zur Frage der Silberpigmentierung des Kayser-Fleischerschen Hornhautringes. Klin. Wschr. **1934**, 255.
Gedigk, P., u. W. Pioch: Über die Speicherung von Schwermetallverbindungen in mesenchymalen Geweben. Beitr. path. Anat. **116**, 124—148 (1956).
Gerlach, W., u. W. Rohrschneider: Besteht das Pigment des Kayser-Fleischerschen Hornhautringes aus Silber? Klin. Wschr. **13**, 2, 48—49 (1934).
Green, Ch. L.: Histochemical demonstration of copper in a case of hepato-lenticular degeneration. Amer. J. Path. **31**, 545—553 (1954).
Haurowitz, F.: Über eine Anomalie des Kupferstoffwechsels. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **190**, 72—74 (1930).
Heilmeyer, L.: Die Kupferstoffwechselstörung beim Morbus Wilson (Hepatolenticuläre Degeneration). In Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. IV/2, S. 61—62. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957.
Hessberg, R.: Klinischer Nachweis und Analyse des Kayser-Fleischerschen Pigmentringes der Pseudosklerose in der Linse. Klin. Mbl. Augenheilk. **2**, 12—22 (1925).
Holmberg, C. G., and C. B. Laurell: Investigation in serum copper. II. Isolation of the copper containing protein and a description of some of its properties. Acta chem. scand. **2**, 550—556 (1948).
Howell, J. S.: Histochemical demonstration of copper in copper-fed rats and in hepatolenticular degeneration. J. Path. Bact. **77**, 473—484 (1959).
Jess, A.: Hornhautverkupferung in Form des Fleischerschen Pigmentringes bei der Pseudosklerose. Klin. Mbl. Augenheilk. **69**, 218—226 (1922).
— Die Pigmenteinlagerung der Linse bei Pseudosklerose im histologischen Schnitt. Klin. Mbl. Augenheilk. **79**, 145—147 (1927).
Kayser, B.: Über einen Fall von angeborener grünlicher Verfärbung der Hornhaut. Klin. Mbl. Augenheilk. **40** (II), 22 (1902).
Kubik, J.: Zur Kenntnis des Kayser-Fleischerschen Ringes (Pseudosklerosering) und zur Pathologie der Pseudosklerose und Wilsonschen Krankheit. Klin. Mbl. Augenheilk. **69**, 214—218 (1922).
— Über das Substrat des Pseudoskleroseringes (Kayser-Fleischerschen Ringes). Klin. Mbl. Augenheilk. **84**, 478—492 (1930).
Lange, J.: Eisen, Kupfer und Eiweiß am Beispiel der Leberkrankheiten. Stuttgart: Georg Thieme 1958.
Pearse, A. G. E.: Histochemistry. Theoretical and applied, 2nd edit. London: J. & A. Churchill 1960.
Peterson, R. E., and M. E. Bollier: Spectrophotometric determination of serum copper with Biscyclohexanoneoxalyldihydrazone. Analyt. Chem. **27**, 1195—1197 (1955).
Richterich, R., E. Gautier, H. Stillhart and E. Rossi: The heterogeneity of caeruloplasmin and the enzymatic defect in Wilson's disease. Helv. paediat. Acta **15**, 5, 424—436 (1960).
Romeis, B.: Mikroskopische Technik, 15. Aufl. München: Leibniz 1948.
Scheinberg, H., and D. Gitlin: Deficiency of ceruloplasmin in patients with hepatolenticular degeneration (Wilson's disease). Science **116**, 484—485 (1952).
Schnabel, R.: Karion „Merck" als Einschlußmittel für die histochemischen Jodreaktionen. Acta histochem. (Jena) **5**, 225—228 (1958).

Siemering, E., u. H. Oloff: Pseudosklerose (Westphal-Strümpell) mit Cornealring (Kayser-Fleischer) und doppelseitiger Scheinkatarakt, die nur bei seitlicher Beleuchtung sichtbar ist und die der nach Verletzung durch Kupfersplitter entstehenden Katarakt ähnlich ist. Klin. Wschr. **1**, 1087—1089 (1922).

Theiler, K., u. B. Cagianut: Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis des Kayser-Fleischerschen Cornealringes. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **162**, 66—71 (1960).

Uzman, L.: Histochemical localization of copper with rubeanic acid. Lab. Invest. **5**, 299—305 (1956).

— The intrahepatic distribution of copper in relation to the pathogenesis of hepatolenticular degeneration. Arch. Path. (Chicago) **64**, 464—479 (1957).

—, and M. A. Jakus: The Kayser-Fleischer ring. A histochemical and electron microscope study. Neurology (Minneap.) **7**, 341—355 (1957).

Vogt, A.: Untersuchungen über das Substrat des Descemet-Pigmentringes bei Pseudosklerose. Klin. Mbl. Augenheilk. **82**, 433—449 (1929).

— Weitere Untersuchungen über die Argyrose des Auges bei Pseudosklerose. Klin. Mbl. Augenheilk. **85**, 1—14 (1930a).

— Das Substrat des Pseudosklerose-Ringes nach Kubik. Klin. Mbl. Augenheilk. **85**, 15—20 (1930b).

Volland, W., u. W. Pribilla: Über die Kupferstoffwechselstörung bei der hepatolenticulären Degeneration. In Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. IV/2, S. 165—168. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957a.

— — Zur Pathologie des Auges in bezug auf Kupferstoffwechselstörungen. In Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. IV/2, S. 168—169. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957b.

Waldenstroem, J.: Stoffwechsel der Eiweiße und Aminosäuren. In Thannhauser, Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten, 2. Aufl., S. 459. Stuttgart: Georg Thieme 1957.

Waterhouse, D. F.: Studies on the physiology and toxicology of blowflies. 10. A histochemical examination of the distribution of copper in lucilia cuprina. Bull. Counc. sci. industr. Res. **191**, 7—18 (1945).

Dr. R. Schnabel und G. Nisch,
Institut für Pathologie der Medizinischen Akademie Magdeburg,
Leipziger Straße 44

v. Graefes Archiv für Ophthalmologie 164, 231—234 (1961)

Aus der Universitäts-Augenklinik Leipzig (Direktor: Prof. Dr. R. Sachsenweger)

Zum stereoskopischen Glanz

Von

R. Sachsenweger

Mit 1 Textabbildung

In einer Diskussionsbemerkung zu meiner Arbeit „Studien über den stereoskopischen Glanz" [diese Z. **162**, 518—526 (1960)] hat H. H. Markiewitz auf Anschauungen von H. v. Helmholtz über die Entstehungsweise des stereoskopischen Glanzes hingewiesen. Diese wurden von Helmholtz in Vorlesungen geäußert, die 1868 in den Preußischen Jahrbüchern im Druck erschienen. Helmholtz setzt sich darin mit der nativistischen Theorie der Raumanschauung von J. Müller und mit den empiristischen Theorien der englischen Sensualisten auseinander und geht dabei unter anderem auch kurz auf das Phänomen des stereoskopischen Glanzes ein.

Man darf sich fragen, warum die in diesen Vorlesungen von Helmholtz geäußerten Ansichten über den stereoskopischen Glanz gegenwärtig kaum mehr zur Diskussion gestellt werden. Vorwiegende Ursache hierfür dürfte sein, daß Helmholtz in seiner Vorlesung keine eigentliche Erklärung des Phänomens abgegeben hat, sondern nur feststellt, daß heterogene Lichtwirkung auf korrespondierende Netzhautstellen einen neuen sinnlichen Eindruck entstehen lassen kann (vgl. Dittler 1932).

Sehr viel eindeutiger sagt hingegen Helmholtz — in Auseinandersetzung mit den Anschauungen seiner Zeitgenossen —, wie der stereoskopische Glanz nach seiner Meinung nicht erklärt werden kann, und zwar *nicht* durch binocularen Wettstreit, *nicht* durch Augenbewegungen, *nicht* durch Verschmelzung.

Man hat den Eindruck, daß sich Helmholtz bei seinen Überlegungen vorwiegend auf Mitteilungen von Dove, dem Entdecker des stereoskopischen Glanzes, stützt. Es erscheint mir darüber hinaus wichtig, darauf hinzuweisen, daß um die Mitte des vergangenen Jahrhunderts über sensorische Phänomene von den verschiedenen Untersuchern erstaunlicherweise sehr differente und oft sogar ganz entgegengesetzte Beobachtungen mitgeteilt worden sind, die dann auch entsprechend unterschiedlich interpretiert wurden. Helmholtz (1884) selbst berichtet über ein derartiges Vorkommnis: Wenn man beiden Augen unterschiedliche Farben darbietet, dann sahen Hering, Dove, Regnault, Brücke, Ludwig und Panum eine Mischfarbe; Helmholtz, H. Meyer, Volkmann, Meissner und Funke nahmen hingegen nie eine Mischfarbe wahr.

Es ist unverkennbar, daß die Gegenwart gerade den Vorstellungen über *binocularen Wettstreit* viel aufgeschlossener gegenüber steht als die Physiologen um die Mitte des vergangenen Jahrhunderts. „Jede unterschiedliche Erregung der beiden Netzhäute führt zunächst zum binokularen Wettstreit" (Schober 1954; vgl. auch Hamburger 1949). Auch die Augenmuskelbewegungen spielen seit 2 Jahrzehnten bei der Erklärung vieler Wahrnehmungsformen des Binocularsehens eine hervorragende Rolle (Adamson 1951, Alagna 1953, Rady und Ishak 1955, Schubert 1954, Monjé 1958). Gerade gegen das von Helmholtz angeführte Argument Doves, binoculare Beobachtungen bei Beleuchtung durch den elektrischen Funken betreffend, sind in der jüngsten Vergangenheit beachtliche Argumente erhoben worden (s. bei Monjé 1958).

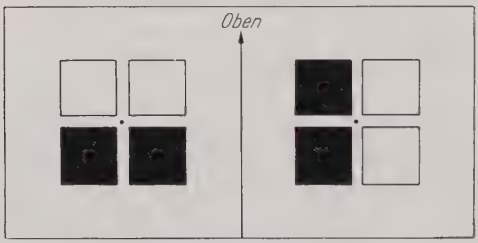


Abb. 1. Testvorlage zur Demonstration des stereoskopischen Glanzes (s. Text)

Der *monoculare* Glanz ist jedenfalls auch in der Vergangenheit vorwiegend als Folge der kleinen unwillkürlichen, schnellphasigen Blickbewegungen gedeutet worden (Dittler 1932).

Daß binokularer Glanz auch bei kurzzeitiger Beleuchtung wahrgenommen werden kann — wenn auch zumeist in reduzierter Weise —, spricht nicht gegen binocularen Wettstreit; nach Tschermak (1947) liegt keine Berechtigung oder gar Nötigung zu der Annahme vor, daß der Wettstreit bis zu dem Extrem einer einäugigen Sehleistung führe.

Welch wesentliche Rolle Wettstreitphänomene, Augenbewegungen und binoculare Verschmelzung für das Zustandekommen des stereoskopischen Glanzes spielen, kann an Hand einer sehr einfachen stereoskopischen Vorlage (Abb. 1) demonstriert werden. Die Vorlage ergibt bei Betrachtung durch ein Stereoskop im linken oberen und rechten unteren Quadranten stereoskopischen Glanz, da dem einen Auge eine weiße, dem anderen Auge eine schwarze Fläche dargeboten wird; der linke untere Quadrant erscheint rein schwarz, der rechte obere Quadrant rein weiß.

1. Beobachtung. Betrachtet man die Testvorlage längere Zeit, dann zeigt der linke obere Quadrant und der rechte untere Quadrant sowohl hinsichtlich des Graus als auch der Intensität des Glanzes ein dauerndes Hin- und Herwogen. Diese Beobachtung kann kaum anders als durch binocularen Wettstreit erklärt werden, zumal sich weitgehende Parallelen zu jenen Wettstreitphänomenen ergeben,

die bei Darbietung unterschiedlich konturierter oder schraffierter Testvorlagen augenfällig sind.

2. Beobachtung. Fixiert man längere Zeit den zentralen Punkt der Testvorlage, dann verschwindet der stereoskopische Glanz im linken oberen und rechten unteren Feld innerhalb weniger Sekunden vollständig. Die Felder zeigen ein mehr oder weniger helles Grau, das bis zum reinen Schwarz bzw. zum reinen Weiß variiert wird, in einer Frequenz, die unabhängig von Aufmerksamkeitslage und Willen des Beobachters ist. Erfolgt nur die geringste Augenbewegung, dann erscheinen die beiden Flächen wieder in eindeutigem Graphitglanz.

3. Beobachtung. Bei der Betrachtung der Testvorlage fällt auf, daß die beiden glänzenden Felder sowohl in der Intensität des Glanzes als auch in der Helligkeit des Graus Unterschiede aufweisen, obgleich beiden Augen dasselbe Weiß und dasselbe Schwarz dargeboten wird. Die Helligkeit der beiden Flächen ist dabei abhängig von der „*Äugigkeit*" (*monoculare Dominanz* nach Hamburger 1949), die eindeutige Beziehungen zum binocularen Wettstreit aufweist. Das unterschiedliche Grau der beiden Flächen läßt darüber hinaus vermuten, daß im Grau der glänzenden Flächen ein Resultat binocularer Verschmelzung vorliegt, wobei das eine Auge mit seinem Eindruck überwiegt.

Ganz offensichtlich ist der stereoskopische Glanz ein sehr komplexes sensorisches Phänomen, für dessen Zustandekommen binocularer Wettstreit jedoch unverkennbar vorrangig ist. Die dominierende gegenwärtige Meinung kommt wohl am prägnantesten in der Feststellung von v. Tschermak (1947) zum Ausdruck: „Verschiedenartige Beanspruchung beider Einzelaugen führt zu einem deutlichen Wettstreit, wobei der Eindruck vom größeren „Gewicht" allgemein, aber nicht ausnahmslos prävaliert. Der Wettstreit zwischen Weiß und Schwarz, Lichtreflex und entsprechender Grundpartie führt zu der Sondererscheinung des binocularen Glanzes."

Ich kann mich auf Grund dieser Beobachtungen und Feststellungen nicht der Meinung von H. H. Markiewitz anschließen, daß mit der von ihm zitierten Passage aus einer Vorlesung von Helmholtz die Entstehungsweise des stereoskopischen Glanzes zur Genüge erklärt worden sei. Auch bin ich der Ansicht, daß diese Anmerkung von Helmholtz aus dem Jahre 1868 nicht so fundamental ist, als daß sie bei jeder Diskussion über die Entstehungsweise des stereoskopischen Glanzes in den Hand- und Fachbüchern wie auch in den wissenschaftlichen Arbeiten Erwähnung finden müsse.

Zusammenfassung

Erwiderung auf eine Diskussionsbemerkung von H. H. Markiewitz. Es wird an Hand von Literaturangaben und mit Beobachtungen an einer stereoskopischen Testvorlage auf die Bedeutung von Augenbewegungen, von binocularer Mischung, vor allen Dingen aber von binocularem Wettstreitphänomen beim Zustandekommen des stereoskopischen Glanzes hingewiesen.

Literatur

Adamson, J.: Zit. nach Monjé 1958.
Alagna, G.: Sul meccanismo della visione steroscopica. Arch. Ottal. **57**, 445—464 (1953).
Dittler, R.: Die Physiologie des Raumsinnes. In Schieck-Brückner, Kurzes Handbuch der Ophthalmologie, Bd. II, S. 448. Berlin 1932.
Dove, H. W.: Über die Ursache des Glanzes etc. Poggendorffs Ann. **83**, 169 (1850).
Hamburger, F. A.: Der Wettstreit und seine Rolle im Binokularsehen. Klin. Mbl. Augenheilk. **115**, 289—319 (1949).
Helmholtz, H. v.: Vorträge und Reden, S. 346f. Braunschweig 1884.
Markiewitz, H. H.: Zum stereoskopischen Glanz. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. **163**, 188 (1961).
Monjé, M.: Der Lichtsinn, Physiologie des Auges. In Velhagen, Der Augenarzt, Bd. I, S. 397—491. Leipzig 1958.
Rady, A. A., and J. G. H. Ishak: Relative contributins of disparity and convergence to stereoscopic acuity. J. opt. Soc. Amer. **45**, 530—534 (1955).
Schober, H.: Das Sehen, Bd. II, S. 362f. u. S. 406f. Leipzig 1954.
Schubert, G.: Zit. nach Monjé 1958.
Tschermak, A. v.: Einführung in die physiologische Optik, S. 114. Wien 1947.

Prof. Dr. R. Sachsenweger, Leipzig C 1,
Universitäts-Augenklinik, Liebigstr. 14

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.

Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigung bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobachtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorläufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden; kurze Richtigstellung der Tatbestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die Forschung anregen.

II. Formelle Anforderungen

Das Manuskript muß in Maschinenschrift, *einseitig und mit breitem Rand* geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern einzureichen.

Die Arbeiten sollen kurz und sprachlich klar abgefaßt sein. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Absätze sind nur zulässig, wenn sie neue Gedankengänge bezeichnen. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) herzustellen.

Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein, jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

Jeder Arbeit ist *eine* kurze Zusammenfassung anzufügen; Inhaltsverzeichnisse können nicht abgedruckt werden.

Von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll (Krankengeschichten, Sektionsbericht, Versuch) im Telegrammstil als Beispiel mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen, durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, bei welchem Institut das gesamte Beweismaterial angefordert werden kann.

Die *Abbildungen* sind auf das unbedingt Notwendige zu beschränken. Kurven, Diagramme usw., die nur zur Illustration von Befunden dienen und ohne weiteres im Text beschrieben werden können, werden zurückgewiesen. Knappe, klare Abbildungsunterschriften (Legenden) erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Sie sind getrennt von den Abbildungen fortlaufend dem Manuskript im Anschluß an das Literaturverzeichnis beizufügen. Unzulässig ist die *doppelte* Darstellung in Abbildung *und* Kurve. Bereits veröffentlichte Abbildungen können nicht wiederholt werden. Ausnahmen hiervon sind nur in besonders begründeten Fällen möglich. *Farbige* Bilder können in der Regel keine Aufnahme finden, auch wenn sie wichtig sind. Für Kurven oder Schwarzweißzeichnungen, die als Strichätzung reproduziert werden können, genügt die Ablieferung sauberer, klarer Skizzen, die vom Verlag umgezeichnet werden. Bei Halbtonbildern (Photos, Mikrophotos, Röntgenbildern, Halbtonzeichnungen) sind saubere, scharfe und tonwertreiche Originalvorlagen (Hochglanzabzüge von Originalphotographien) notwendig. Besondere Wünsche des Autors hinsichtlich des linearen Verkleinerungs- und Vergrößerungsmaßstabes der Vorlagen sollen vermerkt werden.

Die *Beschriftung* der Abbildungen mit Buchstaben oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise hierfür sollen keinesfalls in der Abbildung selbst, sondern auf einem darüberliegenden transparenten Deckblatt angegeben werden. Dort sind auch Abstriche oder gewünschte Bildausschnitte zu bezeichnen. Hinweispfeile oder -linien sind ebenfalls auf dem Deckblatt anzubringen, wobei die Endpunkte durch Einstich mit einer feinen Nadel auf der darunterliegenden Originalvorlage fixiert werden sollen. Es empfiehlt sich ferner, auf dem Deckblatt wichtige Abbildungspartien zu kennzeichnen, damit die Kunstanstalt bei der Ätzung ihr besonderes Augenmerk darauf richten kann.

Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, sind mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band- Seiten- und Jahreszahl in einem Literaturverzeichnis am Schluß der Arbeit zusammenzustellen. Sie sind nach Autorennamen (mit den Anfangsbuchstaben der Vornamen) *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammern gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

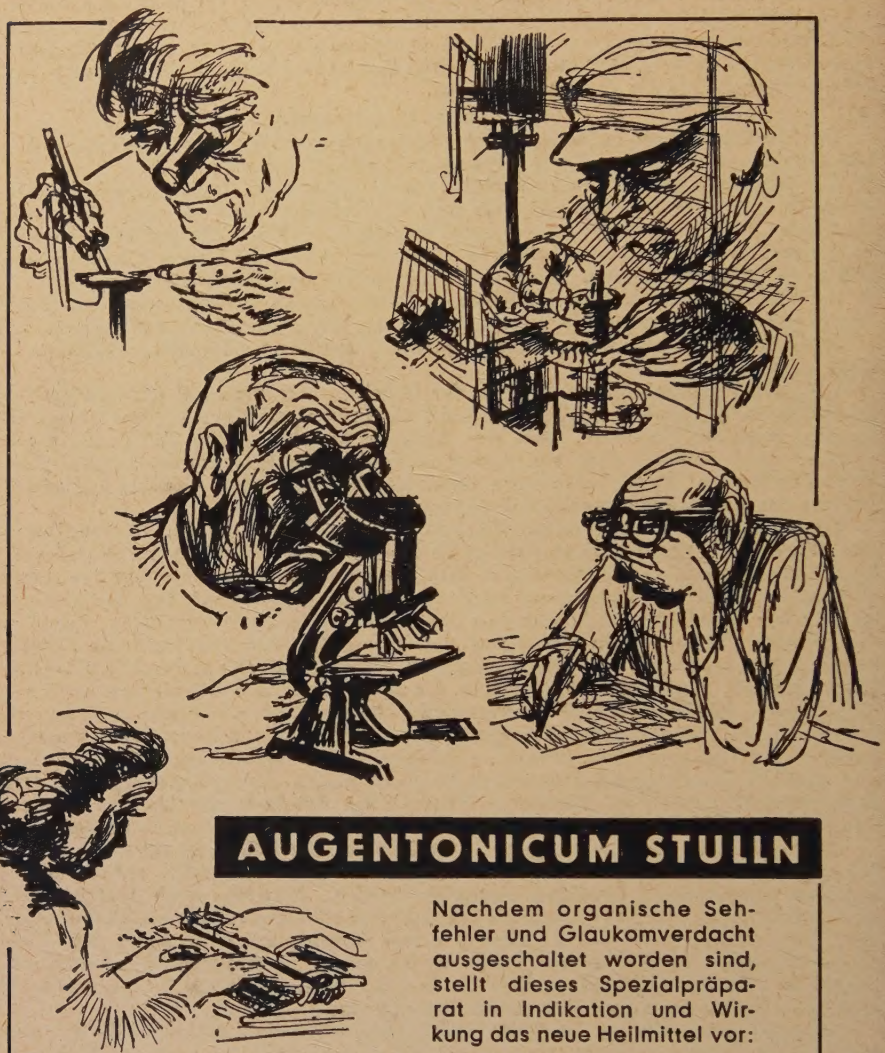
Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und anderen weniger wichtigen Teilen ist für *Kleindruck* vorzumerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.

Das Zerlegen einer Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel nicht die gleichen sind.

Festschriften, Habilitationsschriften und Monographien gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

In der Korrektur sollen nur Druckfehler verbessert, jedoch keine inhaltlichen oder stilistischen Änderungen vorgenommen werden. 10% der Satzkosten übersteigende Korrekturkosten müssen den Autoren in Rechnung gestellt werden.



AUGENTONICUM STULLN

Nachdem organische Sehfehler und Glaukomverdacht ausgeschaltet worden sind, stellt dieses Spezialpräparat in Indikation und Wirkung das neue Heilmittel vor:

Experimentelle und klinische Ergebnisse der Forschung, nach denen das Auge auf lokal applizierte spezifische Digitalis-Wirkstoffe bereits in sehr kleiner und daher völlig nebenwirkungsfreier Dosierung reagiert, eröffneten in Verbindung mit einer Aesculin-Komponente einen neuen Weg zur Behandlung dieser bisher kaum zu beeinflussenden Asthenopie, die immer mehr unter dem oben angeführten Erscheinungsbild einer vegetativen Dystonie des Auges auftritt.

VEREINIGTE FLUSSPATGRUBEN GMBH STULLN/NABBURG OPF.

Abteilung Pharmazeutische Chemie

Der Inlandsauflage dieses Heftes liegt ein Prospekt bei vom Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.

Verantwortlich für den Anzeigenteil: Günter Holtz, Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3. — Springer-Verlag Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg. — Printed in Germany